

# Entwicklung antimikrobieller Oberflächen für die zahnmedizinische Anwendung

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina

zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer

Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von    Cornelia Pfaffenroth  
aus    Wilhelmshaven

1. Referent: Prof. Dr. Henning Menzel

2. Referent: Prof. Dr. Peter Behrens

eingereicht am: 30.03.2011

mündliche Prüfung (Disputation) am: 02.09.2011

Druckjahr 2012

## **Vorveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

### **Publikationen**

Heuer, W., Winkel, A., Kohorst, P., Lutzke, A., Pfaffenroth, C., Menzel, H., Bach, F.-W., Volk, J., Leyhausen, G. & Stiesch, M. Assessment of the Cytocompatibility of Poly-(N-hexylvinylpyridinium) Used as an Antibacterial Implant Coating. *Advanced Engineering Materials* 12 (11): 609-617 (2010).

Stiesch, M., Menzel, H., Abraham, W.-R., Müller, P. P., Dempwolf, W., Pfaffenroth, C., Borchers, L., Kohorst, P. & Winkel, A. Chemische Funktionalisierung und Materialoptimierung dentaler Implantat-Abutments zur Reduktion der oralen Biofilmbildung. Buch zum SFB 599.

Pfaffenroth, C., Winkel, A., Dempwolf, W., Gamble, L. J., Castner, D. G., Stiesch, M. & Menzel, H. Antimicrobial and biocompatible copolymer films on Titanium formed by self-assembly. *Macromolecular Bioscience*, eingereicht.

### **Tagungsbeiträge**

Lorenz, C., Pfaffenroth, C., Hoffmann, A., Gross, G. & Menzel, H.: Functionalization of Titanium Implant Surfaces. (Poster) 7<sup>th</sup> International Symposium on Frontiers in Biomedical Polymers, Gent, Belgien (2007).

Heuer, W., Winkel, A., Lutzke, A., Pfaffenroth, C., Menzel, H., Hauser, H., Müller, P. P., Abraham, W.-R. & Stiesch-Scholz, M.: Biokompatibilitätsuntersuchungen innovativer Implantat-Beschichtungen mittels humaner Gingivafibroblasten. (Poster) Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Hannover (2007).

Pfaffenroth, C., Winkel, A., Stiesch-Scholz, M. & Menzel, H.: Designing Antimicrobial Surfaces for Dental Applications. (Poster) 8<sup>th</sup> World Biomaterials Congress, Amsterdam, Niederlande (2008).

Pfaffenroth, C., Winkel, A., Stiesch-Scholz, M. & Menzel, H.: Designing Antimicrobial Surfaces for Dental Applications. (Poster) Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien, Hamburg (2008).

Pfaffenroth, C., Winkel, A., Dempwolf, W., Gamble, L. G., Castner, D. G., Stiesch-Scholz, M. & Menzel, H.: Antimicrobial Polymeric Coatings for Titanium Implant Surfaces. (Poster) Makromolekulares Kolloquium, Freiburg (2009).

Pfaffenroth, C., Winkel, A., Gamble, L. J., Castner, D. G., Stiesch-Scholz, M. & Menzel, H.: Dual Action Antibacterial Composites for Titanium Implant Coatings. (Poster) European Conference on Biomaterials, Lausanne, Schweiz (2009).

Sluszniak, M., Pfaffenroth, C., Dempwolf, W., Gamble, L. G., Castner, D. G. & Menzel, H.: Ultra dünne Polymerbeschichtungen mit antimikrobieller Wirksamkeit. (Poster) Thüringer Grenz- und Oberflächentage, Friedrichsroda (2009).



## **Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die durch ihre fachliche und persönliche Unterstützung zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Meinem Mentor Prof. Dr. Henning Menzel danke ich für eine interessante Aufgabenstellung, seine engagierte Betreuung und die Möglichkeit zur Teilnahme an vielen interessanten Tagungen. In diesem Zusammenhang danke ich auch Prof. Dr. Peter Behrens für die Übernahme des Korreferats. Dr. Andreas Winkel und Dr. Wolf-Rainer Abraham danke ich für eine gute Zusammenarbeit im Teilprojekt D8 des Sonderforschungsbereichs 599 „Zukunftsfähige bioresorbierbare und permanente Implantate aus metallischen und keramischen Werkstoffen“. An dieser Stelle möchte ich auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die finanzielle Unterstützung danken.

Ein besonderer Dank gilt allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern des Arbeitskreises Menzel für eine angenehme Arbeitsumgebung, eine gute Zusammenarbeit und ständige Hilfsbereitschaft. Dr. Nina Adden, Dr. Olaf Helmecke, Dr. Sven Pohle, Dr. Salva Navarro und Dipl.-Chem Uwe Mundil danke ich für eine herzliche Aufnahme in den Arbeitskreis und für zahlreiche wissenschaftliche Ratschläge, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben. Dr. Frauke Cornelius, Dr. Steffen Harling und MSc. Aromita Sen danke ich über die Diskussion fachlicher Fragestellungen hinaus auch für den notwendigen Spaß an und neben der Arbeit. Insbesondere die zahlreichen Harzausflüge auf Schuster's Rappen, Skiern oder das Übernachten auf Bäumen werden mir in schöner Erinnerung bleiben. Dipl.-Chem. Magda Sluszniaik und Dipl.-Chem. Maria Stern danke ich für viele fruchtbare Diskussionen während meiner Zeit im Zweierbüro und für ihre ständige Hilfsbereitschaft auch außerhalb des Institutslebens. Dipl.-Chem. Andreas Bertz danke ich für die Messungen an der wässrigen GPC. Bei MSc. Sajjad Warraich und Dipl.-Chem. Bianca Tiedemann möchte ich mich für die seelische Unterstützung bei den Auseinandersetzungen mit der TGA bedanken. Dr. Wibke Dempwolf gilt mein Dank für die Durchführung der XPS-Messungen und für ihre Mitarbeit im SFB 599. Ein spezieller Dank geht auch an Dipl.-Chem. Katrin Bleek von der Universität Postdam für die Durchführung der TEM-Untersuchungen. Den neuen Mitgliedern des Arbeitskreises Menzel MSc. Robert Mildner, MSc. Nils Poth, MSc. Christoph Hadler und MSc. Nico Timpe möchte ich für die nette Arbeitsatmosphäre in meinen letzten Wochen am Institut danken. MSc. Marco Waßmann wünsche ich darüber hinaus viel Erfolg für die

weiteren Forschungsarbeiten zur Entwicklung antimikrobieller Beschichtungen für die zahnmedizinische Anwendung. Ein besonderer Dank gilt auch Dipl.-Chem. Ansgar Niehoff und Dipl.-Chem. Corinna Lorenz für die angenehme Zeit im Schreiberbüro.

Neben den Mitgliedern des Arbeitskreises möchte ich auch den Mitarbeitern des Instituts für Technische Chemie danken. Frau Christa Vogel und Frau Gabi Schirmer für das sichere Lotsen durch alle administrativen Probleme, Frau Anita Scherbarth für die EDX-Untersuchungen, Frau Birgit Niehoegen für die AAS-Untersuchungen und Dr. Dirk-Christian Eiting für die mentale Unterstützung. Ein ganz herzlicher Dank gilt an dieser Stelle auch Herrn Rolf Harrendorf für das Anfertigen einer unendlichen Anzahl von Probenhalterungen, die Erschaffung des NANOMAG-DA, das gemeinsame Basteln an unwilliger Laborausstattung und die schönen Stunden an der Werkbank.

Für die Durchsicht des Manuskripts danke ich zudem Dipl.-Chem. Magda Sluszniak und ganz besonders Dr. Simone Jurjevic.

Besonderer Dank gebührt meinen Eltern und meiner Schwester, die mir Studium und Promotion durch ihre Unterstützung ermöglicht und stets an mich geglaubt haben. Innigster Dank gilt auch Knuth für sein Verständnis, seine Unterstützung und seine Begleitung während der letzten Jahre. Ohne Dich wäre vieles nicht möglich gewesen.

## Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Aufgabenstellung.....</b>	<b>7</b>
<b>3. Modifizierung von Oberflächen.....</b>	<b>9</b>
3.1. Anbindung von Alkylphosphonsäuren und ihren Estern an Titandioxid.....	9
3.2. Polymerfilme auf Oberflächen .....	11
3.3. Antimikrobiell wirksame Verbindungen und Oberflächen.....	14
3.3.1. Antibiotika .....	15
3.3.2. Antimikrobielle Peptide.....	17
3.3.3. Kationische Antiseptika.....	20
3.3.4. Silber .....	22
<b>4. Strategie zur Herstellung antimikrobieller Oberflächenbeschichtungen .....</b>	<b>26</b>
<b>5. Grundlagen .....</b>	<b>31</b>
5.1. Freie radikalische Copolymerisation.....	31
5.1.1. Die Copolymerisationsgleichung .....	31
5.1.2. Die Copolymerisationsparameter .....	31
5.1.3. Bestimmung von Copolymerisationsparametern .....	33
5.1.4. Das Q-, e-Schema.....	34
5.2. Oberflächenanalytik .....	35
5.2.1. Kontaktwinkelmessungen .....	35
5.2.1.1. Benetzbarkeit von Oberflächen .....	35
5.2.1.2. Grenzflächenenergetische Grundgrößen .....	36
5.2.1.3. Die Young'sche Gleichung .....	36
5.2.1.4. Kontaktwinkel-Hysterese .....	37
5.2.1.5. Die Tilting-Plate Methode.....	37
5.2.2. Ellipsometrie .....	38
5.2.2.1. Physikalische Grundlagen .....	38
5.2.2.2. Polarisierung von Licht .....	39
5.2.2.3. Wechselwirkung von Licht mit Materie.....	40
5.2.2.4. Mehrschichtsysteme .....	43
5.2.2.5. Messgrößen in der Ellipsometrie.....	43
5.2.2.6. Aufbau und Messprinzip eines Ellipsometers .....	44
5.2.2.7. Bestimmung von Materialeigenschaften anhand optischer Parameter.....	45
5.2.3. XPS.....	47
5.2.3.1. Grundlagen .....	48
5.2.3.2. Chemische Verschiebung .....	49
5.2.3.3. Übersichtsspektren .....	50
5.2.3.4. Hochauflösende Spektren.....	52
5.2.3.5. Quantifizierung.....	53
5.2.3.6. Aufbau eines XPS .....	54
<b>6. Synthese.....</b>	<b>56</b>
6.1. Monomersynthese .....	56
6.1.1. Darstellung von 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester.....	57
6.1.2. Darstellung von Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat .....	58

6.2. Polymersynthese.....	59
6.2.1. <i>Darstellung der Präpolymere</i> .....	64
6.2.1.1. Ergebnisse der freien radikalischen (Co)polymerisationen.....	67
6.3. N-Alkylierung von Vinylpyridin-haltigen Präpolymeren .....	70
6.3.1. <i>Darstellung (partiell) N-alkylierter Polymere</i> .....	71
6.3.1.1. Vollständige und partielle N-Alkylierung mit Bromhexan .....	73
6.3.1.2. Partielle N-Alkylierung unter Verwendung von Bromhexan und Bromhexen .....	74
6.3.1.3. Ergebnisse der N-Alkylierungsreaktionen .....	74
6.4. Silberhaltige Kompositmaterialien.....	77
6.4.1. <i>Darstellung silberhaltiger Kompositmaterialien</i> .....	78
6.4.1.1. Qualitative Untersuchung der Einlagerung von Silberbromid .....	79
6.4.1.2. Quantitative Untersuchung der Einlagerung von Silberbromid .....	79
6.4.1.3. Größe und Größenverteilung der eingelagerten Silberbromid-Partikel.....	87
6.4.1.4. Ergebnisse der Synthese silberhaltiger Kompositmaterialien.....	91
<b>7. Polymeranbindung .....</b>	<b>93</b>
7.1. Photochemische Anbindung.....	93
7.1.1. <i>Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure</i> .....	96
7.1.1.1. Ergebnisse der Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure.....	96
7.1.2. <i>Anbindung von Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid)</i> .....	100
7.1.2.1. Ergebnisse der Anbindung von Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid) .....	101
7.2. Anbindung oberflächenaktiver (Co)Polymere .....	105
7.2.1. <i>Ergebnisse der Anbindung von Copolymeren von hexyl-VP</i> .....	106
7.2.1.1. Einflussgröße Copolymerzusammensetzung.....	110
7.2.2. <i>Ergebnisse der Anbindung silberhaltiger Komposite</i> .....	113
7.2.3. <i>Ergebnisse zur Anbindung vernetzbarer, silberhaltiger Komposite</i> .....	119
7.2.4. <i>Untersuchung der Silberfreisetzung aus Kompositbeschichtungen</i> .....	121
<b>8. Biokompatibilität und antimikrobielle Wirksamkeit .....</b>	<b>125</b>
8.1. Testsysteme und Methodik.....	125
8.2. Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit.....	127
8.2.1. <i>Ergebnisse des Screenings potentiell kontaktbakterizider Oberflächen</i> .....	128
8.2.2. <i>Ergebnisse des Screenings silberhaltiger Oberflächen</i> .....	132
8.2.3. <i>Untersuchung der Silberfreisetzung in TRIS-gepuffertem Medium</i> .....	136
8.3. Biokompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten .....	139
8.3.1. <i>Ergebnisse der Biokompatibilitätsuntersuchungen</i> .....	140
8.4. Weiterführende antimikrobielle Untersuchungen von (hexyl-VP) <sub>0.24</sub> (DMMEP) <sub>0.76</sub> ..	145
8.4.1. <i>Ergebnisse weiterführender antimikrobieller Untersuchungen</i> .....	145
8.5. Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften .....	147
8.5.1. <i>Ergebnisse der Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften</i> .....	147
<b>9. Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>153</b>
<b>10. Experimenteller Teil .....</b>	<b>157</b>
10.1. Materialien .....	157

10.1.1. Verwendete Lösungsmittel.....	157
10.1.2. Verwendete Chemikalien.....	158
10.1.3. Substrate.....	159
10.2. Monomersynthese .....	159
10.2.1. 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester (VBP).....	159
10.2.2. Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP).....	160
10.3. Darstellung der (Prä)polymere .....	161
10.3.1. Poly(4-Vinylpyridin).....	161
10.3.2. Poly(4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester).....	162
10.3.3. Poly(Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat) .....	162
10.3.4. Poly(4-Vinylpyridin-co-Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat).....	162
10.3.5. Poly(4-Vinylpyridin-co-4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester).....	163
10.4. Polymeranaloge Umsetzung der Präpolymere .....	164
10.4.1. Vollständige N-Alkylierung mit Bromhexan.....	164
10.4.2. Partielle N-Alkylierung mit Bromhexan.....	165
10.4.3. Partielle N-Alkylierung mit Bromhexan und Bromhexen.....	165
10.5. Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln .....	166
10.6. Modifizierung von Titan .....	167
10.6.1. Synthese von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure .....	167
10.6.1.1. Diethyl-3-bromopropylphosphonat .....	167
10.6.1.2. Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonat .....	168
10.6.1.3. Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure.....	169
10.6.2. Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure.....	169
10.6.3. Photochemische Anbindung .....	170
10.6.4. Anbindung oberflächenaktiver (Co)Polymere .....	170
10.7. Verwendete Geräte und Methoden.....	170
<b>11. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>175</b>



**Abkürzungs- und Symbolverzeichnis**

A	Fläche
	elektrische Feldstärke (Ellipsometrie)
$A_0$	Amplitude
AAS	Atomabsorptions-Spektroskopie
AFM	Atomic Force Microscopy
AgPTS	Silber para-Toluolsulfonat
AiBN	Azobisisobutyronitril
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
c	Lichtgeschwindigkeit
CLSM	Laser Scanning Mikroskopie
d	Duplett (NMR)
dd	Duplett von Dupletts (NMR)
DIPVBP	Diisopropyl-p-vinylbenzylphosphonat
DMAEMA	Dimethylaminoethylmethacrylat
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMMEP	Dimethyl(2-methacryloyloxyethylphosphonat)
DNA	Desoxy-Ribonuklein-Säure
dn/dc	Brechungsindexinkrement
DOPA	3,4-Dihydroxyphenylalanin
dt	Duplett von Tripletts (NMR)
EA	Elementaranalyse
$E_{\text{bind}}$	Bindungsenergie
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
$E_{\text{kin}}$	kinetische Energie
EPS	extrazelluläre polymere Substanzen
ESCA	Electron Spectroscopy for Chemical Analysis
FT	Fourier-Transformation
GPC	Gel-Permeationschromatographie
$G^s$	freie Gibb'sche Energie der Oberfläche
h	Planck Konstante
HEMA	Hydroxyethylmethacrylat
hexyl-PVP	Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid)

hexyl-VP	4-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid
IR	Infrarot (Spektroskopie)
J	Kopplungskonstante (NMR)
k	Geschwindigkeitskonstante
k	Extinktionskoeffizient (Ellipsometrie)
$k_0$	Parameter für die Reaktivität von Pyridingruppen
$K_L$	Löslichkeitsprodukt
LbL	Layer-by-Layer
LDH	Laktatdehydrogenase
m	Gewicht (Einwaage)
	Multiplett (NMR)
	medium = mittel (IR)
$[M]_i$	Konzentration von Monomer i in der Monomerenmischung
$m_i$	molarer Anteil der Monomereinheit i im Polymer
MMA	Methylmethacrylat
$M_n$	Molekulargewicht (Zahlenmittel)
$M_w$	Molekulargewicht (Gewichtsmittel)
n	Brechungsindex
$\tilde{N}$	komplexer Brechungsindex
NASI	N-Acryloxysuccinimid
NMR	magnetische Kernresonanz
NMRP	Nitroxide-Mediated Radical Polymerization
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PD	Polydispersität
PDMMEP	Poly(Dimethyl(2-methacryloyloxyethylphosphonat))
PEGMA	Poly(ethylenglycolmethacrylat)
PVBP	Poly(4-Vinylbenzyl-phosphonsäurediethylester)
PVP	Poly(4-vinylpyridin)
QCM	Quartz Crystal Microgravimetry
RAFT	Reversible Addition-Fragmentation Chain Transfer Polymerization
REM	Rasterelektronenmikroskopie
$r_i$	Copolymerisationsparameter
$R^p, R^s$	Reflektionsgrad



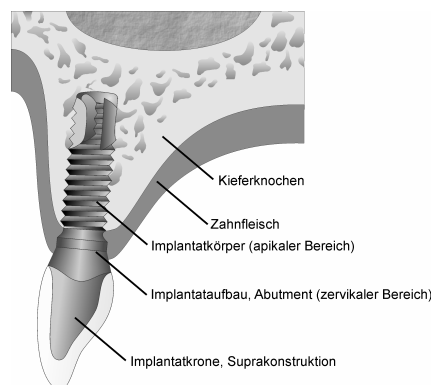
$r^p, r^s$	Fresnel Koeffizienten
RSF	relativer Sensitivitätsfaktor
s	Singulett (NMR) strong = stark (IR)
SAM	Self-Assembled Monolayer
SEM	Scanning Electron Microscopy
SFRP	Stable Free Radical Polymerization
t	Zeit Triplett (NMR)
$T_{Di}$	thermische Zersetzungstemperatur der Degradationsstufe i
TEM	Transmissionselektronenmikroskopie
TEMPO	2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxid
TGA	Thermogravimetrische Analyse
THF	Tetrahydrofuran
ToF-SIMS	Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry
TRIS	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
UV	Ultraviolett
V-50	2,2'-Azo-bis-(isobuttersäureamidin)dihydrochlorid
VBP	4-Vinylbenzyl-phosphonsäurediethylester
4-VP	4-Vinylpyridin
v	Geschwindigkeit Copolymerisationsgeschwindigkeit
w	weak = schwach (IR)
x	Weglänge
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy = Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie
$\beta$	Parameter für die sterische Hinderung bei der N-Alkylierung
$\beta_{sl}$	Adsorptions- oder Benetzungsspannung
$\delta$	Phasendifferenz (Ellipsometrie) chemische Verschiebung (NMR)
$\Delta$	Änderung
$\Delta$	Del = Änderung der Phasendifferenz (Ellipsometrie)
$\phi$	Winkel des Lichts relativ zur Oberflächennormalen
$\gamma_{sl}$	Grenzflächenspannung

$\gamma_{sv}, \gamma_{lv}$	Oberflächenspannung
$\lambda$	Wellenlänge
$\theta_{adv}$	fortschreitender (advancing) Kontaktwinkel
$\theta_{adv}$	rückschreitender (receding) Kontaktwinkel
$\psi$	charakteristischer Winkel in der Ellipsometrie
$\xi$	Phasendifferenz
$\Phi$	Arbeitsfunktion des Spektrophotometers
$\nu$	Frequenz des Lichts
$\chi$	Molenbruch

## 1. Einleitung

Zahnimplantate haben sich zu einer weitverbreiteten Lösung in der ästhetischen und funktionell hochwertigen Rehabilitation von teilweisem oder vollständigem Zahnverlust entwickelt. Die geschätzte Summe der Implantationen in Deutschland stieg von 200 000 im Jahre 2001 auf rund 450 000 im Jahre 2005 und 950 000 im Jahre 2007. Schätzungen aus dem Jahre 2005 zufolge wurden weltweit pro Jahr etwa 1,5 Millionen Zahnimplantate gesetzt.<sup>[1]</sup> Neuere Zahlen für den weltweiten Markt besagen, dass Zahnimplantate ein Volumen von 18 % des globalen Marktes im Dentalbereich einnehmen. Das finanzielle Volumen des globalen Marktes für dentale Implantate wird voraussichtlich von 3,2 Milliarden US Dollar im Jahr 2010 auf 4,2 Milliarden US Dollar im Jahr 2015 steigen. Dabei stellt Europa zur Zeit den größten Markt für dentale Implantate mit einem Marktanteil von 42 % dar.<sup>[2]</sup>

Gängige Zahnimplantate bestehen aus einem Titanstift, auf dem die von außen sichtbare Krone aus Keramik aufgebracht wird. Dabei weist die zur Osseointegration vorgesehene Zone eine raue Oberfläche und ein Gewinde auf. Die Gingivadurchtrittsregion im Bereich des Abutments hingegen besteht aus poliertem Titan, um eine möglichst glatte Oberfläche zu erzielen, an welche sich das Zahnfleisch ohne Hohlraumbildung und der damit verbundenen Gefahr der Biofilmbildung anlagern kann (Abbildung 1-1).



**Abbildung 1-1:** Schematische Darstellung eines Zahnimplantats<sup>1</sup>

Schwachpunkt bei Implantaten ist der Übergang von der Mundhöhle in den Kieferknochen am sogenannten Implantathals. Kommt es dort zu Entzündungen, spricht man von einer Periimplantitis. Periimplantitis, eine chronisch fortschreitende standort-spezifische Infektion, beschreibt einen entzündlichen Prozess, der das Gewebe um das osseointegrierte Implantat betrifft und in einem Verlust von tragendem Knochen enden kann. Studien von HULTIN et al.<sup>[3]</sup> zufolge beruht die Entstehung einer Periimplantitis ausschließlich auf einer

<sup>1</sup> Bildquelle: Prof. Meike Stiesch, Medizinische Hochschule Hannover

durch Bakterien verursachten Reaktion im Implantatbereich. Eine in der Zahnmedizin ebenfalls als Ursache für Periimplantitis diskutierte, anormale Immunantwort in Verbindung mit einer bakteriellen Herausforderung wurde hingegen als unwahrscheinlich eingestuft.

In der Regel treten Implantatversagen im ersten Jahr nach der Implantation auf, Komplikationen in Form von entzündlichen Prozessen werden aber auch während der Lebensdauer der Implantate beobachtet. Die besonderen Anforderungen an dentale Implantate liegen in der Tatsache begründet, dass sie mit verschiedenen Körpergeweben und –flüssigkeiten in Kontakt stehen. Daher müssen die Materialien und insbesondere deren Oberflächen derart beschaffen sein, dass sie sowohl Osseointegration im apikalen Bereich des Implantatkörpers (Abbildung 1-1) als auch die Anlagerung der Gingiva im zervikalen Bereich des Abutments (Abbildung 1-1) ermöglichen und darüber hinaus ausreichende Resistenz gegenüber chemischen und physikalischen Belastungen der Mundhöhle aufweisen.

Die primäre Osseointegration dentaler Implantate kann auf zufriedenstellende Weise gewährleistet werden, jedoch besteht in Bezug auf die Implantatoberfläche der Gingivadurchtrittsregion noch erheblicher Forschungsbedarf. Insbesondere bei Tumorpatienten führen im Bereich der periimplantären Gingiva entstehende Infektionen zu einer Implantatlockerung. Die Gründe sind in einer verminderten Immunabwehr infolge der Erkrankung, sowie in einer verminderten Gewebedurchblutung und einer modifizierten Biofilmbildung infolge der Tumorthherapie zu sehen.

Die bei allen Menschen zu beobachtende Biofilmbildung auf Zahn- und Implantatoberflächen ist verantwortlich für die Etablierung parodontalpathogener Keime. Bevor der Spezialfall der Biofilmbildung auf dentalen Implantaten betrachtet und Lösungsansätze zur Verringerung des Infektionsrisikos diskutiert werden können, müssen zunächst allgemeingültige Beobachtungen und Zusammenhänge betreffend der Biofilmbildung betrachtet und verstanden werden. Auf 3,5 Milliarden Jahre rückdatierte fossile Biofilme sind die ersten Zeugen von Leben auf der Erde und verdeutlichen, dass bakterielles Leben die bei weitem erfolgreichste Form von Leben darstellt. Mikroorganismen sind in der Regel nicht in freibeweglicher, planktonischer Form zu finden, sondern über 99% aller Mikroorganismen auf der Erde leben in einer Form von Aggregation, dem sogenannten Biofilm. Alle Biofilme haben gemeinsam, dass die Organismen in einer Matrix mikrobiologischen Ursprungs bestehend aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) wie Polysacchariden und Proteinen vorliegen.<sup>[4]</sup> Die Biofilmbildung stellt einen mehrstufigen Prozess dar, wobei die primäre Adhäsion von Mikroorganismen den initialen Schritt repräsentiert. Dieser beruht nach FLEMMING et al.<sup>[5]</sup> auf einem durch physiko-chemische Wechselwirkungen gesteuerten

Prozess. Von entscheidender Bedeutung für den ersten Kontakt zwischen Oberfläche und Mikroorganismus sind dabei die Eigenschaften der eine bakterielle Zelle umgebenden EPS. Die Zellwand ist gar nicht oder erst in späteren Phasen der Adhäsion beteiligt.<sup>[4]</sup> Vermehrung und Bindung weiterer Mikroorganismen nach der primären Adhäsion führt schließlich zu einer strukturierten Bakterienaggregation. Genetische Studien von Biofilmen haben gezeigt, dass die Etablierung in multiplen Stufen ein interzelluläres Signaling erfordert. Auch existieren Beweise, dass durch Transkription unterschiedlicher Gene eine Differenzierung eines Bakteriums aus planktonischer Phase zu einer Biofilm-assoziierten Zelle erfolgt.<sup>[6]</sup> Insgesamt kann ein Biofilm als komplexe und hoch differenzierte Gemeinschaft unterschiedlicher Spezies von Bakterien angesehen werden. Diese tauschen ihr genetisches Material in hohen Raten aus. Sie besetzen bestimmte Nischen innerhalb des Biofilms entsprechend ihren Überlebensmöglichkeiten in den spezifischen Mikroumgebungen und den symbiotischen Beziehungen zwischen Gruppen von Bakterien. Gelegentlich lösen sich Bakterien aus der Biofilmmatrix und verlassen den Biofilm. Dies sichert das Überleben von Bakterien im Falle einer Erschöpfung von Nährstoffen oder unter ungünstigen Umgebungsbedingungen.

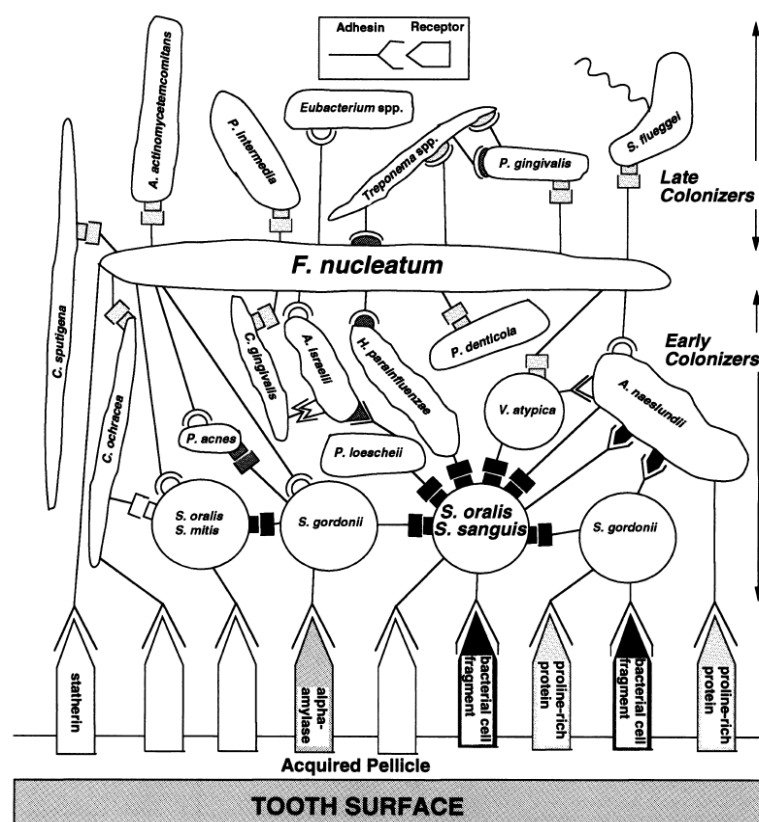
Ein Leben eingelagert in einer Matrix extrazellulärer polymerer Substanzen bietet den Organismen im Biofilm gegenüber planktonischem Vorkommen entscheidende Vorteile. Sie können stabile Anordnungen von synergistischen Mikrokonsortien unterschiedlicher Spezies ausbilden und die Matrix kann Nährstoffe aus der Umgebung aufnehmen. Zudem sind in einem Biofilm assoziierte Bakterien resistenter gegenüber toxischen Substanzen wie Antibiotika, Chloriden und Detergenzien. Verantwortlich hierfür ist eine Herabsetzung der Konzentration von Bioziden durch Reaktion mit biofilmspezifischen Substanzen wie Exopolysacchariden, eine verschlechterte Angreifbarkeit bedingt durch eine verminderte bakterielle Wachstumsrate und spezifische Effekte basierend auf dem sogenannten „Quorum sensing“.<sup>[4, 6]</sup>

Biofilme sind in der Natur allgegenwärtig. Sie besitzen große ökologische Bedeutung, können aus der Sicht des Menschen aber zur falschen Zeit am falschen Ort auftauchen und zu sogenanntem Biofouling führen. Für die vorliegende Arbeit ist die durch Biofilme bestimmte Mineralablagerung auf Zähnen, das sogenannte Plaque von besonderem Interesse. In der menschlichen Mundhöhle ist eine große Anzahl und Diversität von Mikroben angesiedelt, die über 37 Gattungen von Bakterien aufweist. Im Vergleich zur beschriebenen allgemeinen Etablierung von Biofilmen auf Oberflächen spielt bei der Adhäsion und Verteilung von Bakterien in Plaque eine spezifische Koaggregation von oralen Bakterien eine essentielle

Rolle.<sup>[7]</sup> Diese kann innerhalb einer Gattung, innerhalb bestimmter Gattungen oder auch innerhalb multipler Gattungen von Bakterien auftreten. Die im Rahmen von Koaggregationen eingegangenen Beziehungen sind spezifischer Natur. Neben der Spezifität bezüglich der Lokalisation sind die Beziehungen auch spezifisch im Hinblick auf die zeitliche Besiedlung einer frisch gereinigten Zahnoberfläche. Pionierkeime stellen in hohem Maße *Streptococci* dar, welche 47 bis 85 % der anzutreffenden Keime innerhalb der ersten vier Stunden nach professioneller Zahnreinigung darstellen. Innerhalb von 12 Stunden diversifiziert sich die Population und beinhaltet *Actinomyces*, *Capnocytophagen*, *Hämophili*, *Prevotellae*, *Propionibacteria* und *Veillonellae*. Es ist bekannt, dass viele der Pionierkeime Bestandteile der dünnen Schicht aus Glykoproteinen, Muzinen und Enzymen aus der Saliva (Pellicel) erkennen, die frisch gereinigte Zahnoberflächen bedeckt. Einige Pionierkeime adhärieren direkt an diese Schicht und zeigen intensive Koaggregationen innerhalb der eigenen oder diversen Gattungen. Alle Pionierkeime sind aber auch in der Lage, mit *Streptococci* und/oder *Actinomyces*, - zwei Zelltypen, die mehr als 90 % der lebenden Zellen in frühem Plaque darstellen - zu koaggregieren. Nach der Adhäsion sogenannter Pionierkeime erfolgt die Anlagerung von sekundären Keimen. Generell synthetisieren sekundäre Besiedler adhäsive Proteine, die Rezeptoren auf Pionierkeimen erkennen. Eine Adhäsion an dem auf Zahnoberflächen gebildetem Pellicel erfolgt hingegen gar nicht oder in unspezifischer Form. Die Folge ist eine bevorzugte Koaggregation von sekundären Keimen mit Fusobakterien, welche eine Koaggregation mit Pionierkeimen überbrücken. Aufgrund der beschriebenen Zusammenhänge kann angenommen werden, dass eine Beziehung zwischen Koaggregation und Auftreten bestimmter Bakterien in Plaque besteht (Abbildung 1-2).

Ansatz in der zahnmedizinischen Entwicklung zur Verringerung der Biofilmbildung und damit des Periimplantatrisikos stellt das Erreichen eines dichten periimplantären Verschlusses zwischen Zahnimplantat und umgebendem Gewebe dar. Grundvoraussetzung hierfür ist eine Implantatoberfläche, an welche die Gingiva dauerhaft anlagern kann. Eine unvollständige Anlagerung der Gingiva an das Implantat hat eine rasche Adhäsion parodontalpathogener Bakterien zufolge. Erreicht werden kann dieses Ziel durch die Entwicklung funktioneller Oberflächen, welche die Bildung eines Biofilms mit parodontalpathogenen Keimen verhindern, die Anlagerung der Gingiva hingegen fördern. Bereits durchgeführte Untersuchungen mit einem an der Medizinischen Hochschule Hannover entwickelten Verfahren zur Analyse der Biofilmbildung auf Implantatoberflächen umfassen den Einfluss von Oberflächenrauigkeiten, Beschichtungen mittels Physical Vapour Deposition und Nanokomposit-Beschichtungen auf die Biofilmbildung.<sup>[8]</sup> Dabei wurde eine signifikant

ausgeprägtere Biofilmbildung im Bereich rauer Oberflächen beobachtet. Beschichtungen mit Titannitrid<sup>[9]</sup>, Titanaluminiumnitrid und Zirkonnitrid<sup>[9]</sup>, die mittels Physical Vapour Deposition aufgebracht wurden, führten bei in-vivo Untersuchungen zu keiner signifikanten Reduktion der Biofilmbildung. Nanokomposit-Beschichtungen hingegen, deren Wirkung in einer Veränderung der Oberflächenspannung durch einen Fluor-Gradienten liegt, erwiesen sich als vielversprechend, zeigten aber keine ausreichende mechanische Stabilität. Deshalb ist die Entwicklung von Polymerbeschichtungen, die eine Biofilmbildung verhindern, jedoch die Ansiedlung und Proliferation körpereigener Zellen möglichst positiv beeinflussen, eine vielversprechende Perspektive zur Vermeidung der Periimplantitis.



**Abbildung 1-2:** Schematische Darstellung der spezifischen Koaggregation von oralen Bakterien in einem Biofilm.<sup>[7]</sup> Pionierkeime binden an Rezeptoren des Pellicels und bilden die Grundlage für sekundäre Besiedler. Koaggregationen innerhalb von Bakterien und Wechselwirkungen mit Bestandteilen des Pellicels sind durch das jeweilige Symbol für Adhäsion bzw. Rezeptor gekennzeichnet. Unterschiedliche Ausführungen dieser Symbole stehen für unterschiedliche mikrobiologische Behandlungen, die zu einer Aufhebung der Wechselwirkungen und Koaggregationen führen.

Das Ziel einer vollständigen Unterdrückung von Biofilmbildung scheint aber aus zwei Gründen nur schwer realisierbar. Dies ist zum einen die hohe Überlebensfähigkeit von Bakterien in Biofilmen. Zum anderen können antimikrobielle Wirksamkeit und Biokompatibilität von polymeren Oberflächenbeschichtungen zwei gegenläufige und nicht

miteinander vereinbare Effekte darstellen. Daher ist die grundlegende Idee, mit Biofilmen zu leben, ebenfalls ein überlegenswerter Ansatz. In diesem Fall könnte an die Stelle der vollständigen Unterdrückung von Biofilmbildung eine gezielte Einwirkung auf einzelne Keime im Biofilm treten. In Anbetracht der beschriebenen zeitlichen Besiedlung von Oberflächen in der menschlichen Mundhöhle ist beispielsweise die Beeinträchtigung von als pathogen bekannten Keimen denkbar. Eine weitere Option ist die Unterdrückung der Anlagerung von Fusobakterien, die eine Koaggregation überbrücken und somit die Adhäsion von sekundären Besiedlern fördern.

Als Substrate für die Polymerbeschichtungen bieten sich Titan und Zirkondioxidkeramiken an, welche sich in der zahnärztlichen Prothetik etabliert haben. Die Beschichtung des Implantats erfolgt in der Zone, die mit dem Zahnfleisch in Kontakt steht. Als Methode zur Aufbringung der Polymerbeschichtungen ist das von GRIEP-RAMING et al.<sup>[7, 10]</sup> auf Titan übertragene photochemische „Grafting onto“ mittels einer zuvor aufgetragenen Benzophenon enthaltenden Monoschicht geeignet. Ein weiterer geeigneter und gegenüber dem photochemischen „Grafting onto“ vereinfachter Ansatz ist die Herstellung von Polymeren, die eine oberflächenaktive Gruppe im Polymerrückgrad tragen und somit direkt an Titanoberflächen binden können.



## 2. Aufgabenstellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung selektiv wirkender bakterizider Beschichtungen, die eine Biofilmbildung auf Implantatoberflächen mit Hautdurchtrittsregion verhindern oder eine gezielte Einwirkung auf die bakterielle Zusammensetzung des Biofilms erlauben. Um dieses Ziel zu erreichen, soll auf zwei bereits bekannte Ansätze zur Herstellung antimikrobieller Oberflächen aufgebaut werden.

Zum einen soll die Fähigkeit von synthetischen Polymeren, die sowohl kationische Ladungen als auch hydrophobe Bereiche besitzen, zur Schädigung bakterieller Zellmembranen genutzt werden.<sup>[11-14]</sup> Die meisten dieser kontaktbakteriziden Polymere werden in der Literatur als wenig selektiv beschrieben,<sup>[15, 16]</sup> was für den Einsatz auf Implantatoberflächen eine gezielte Verbesserung der Biokompatibilität erforderlich macht. Dies soll durch die Copolymerisation mit im Rahmen von Biokompatibilitätsuntersuchungen beschriebenen phosphonathaltigen Monomeren<sup>[17]</sup> erzielt werden.

Zum zweiten soll die bekannte antiseptische Wirkung von Silber bei gleichzeitig geringer Toxizität<sup>[18, 19]</sup> im Rahmen der Entwicklung von Kompositmaterialien mit dualen Wirkungsmechanismus genutzt werden. Dieser soll sowohl durch die Freisetzung von Silberionen als auch durch den Einsatz einer kontaktbakteriziden Polymermatrix erreicht werden.

Die den beiden Ansätzen zugrunde liegenden Copolymerisationen sollen als freie radikalische Reaktionen durchgeführt und die Produkte mittels <sup>1</sup>H-NMR Untersuchungen, Elementaranalyse und Gel-Permeations-Chromatographie charakterisiert werden.

Die Anbindung der Polymere und Composite an Titan(oxid) soll in Abhängigkeit ihrer Zusammensetzung auf zwei Wegen erfolgen. Phosphonathaltige Polymere sollen in einem einfachen Spin Coating-Prozess aufgebracht werden und sich aufgrund ihrer Oberflächenaktivität<sup>[20]</sup> als ultradünne Filme an die Oberfläche binden. Polymere ohne oberflächenaktive Gruppen wie das Homopolymer der eingesetzten quartären Ammoniumverbindung sollen über die von GRIEP-RAMING et al.<sup>[10]</sup> entwickelte Methode des photochemischen „Grafting onto“ angebunden werden.

Eine Bestätigung der Polymer- und Kompositanbindung und eine Charakterisierung der resultierenden Filme soll durch Kontaktwinkelmessungen, Ellipsometrie und Röntgen-Photoelektronenspektroskopie erfolgen.

Die Evaluierung der antimikrobiellen Wirksamkeit der entwickelten Beschichtungen wird an zahnmedizinisch relevanten Einzelkeimen und komplexen Biofilmgemeinschaften an der Medizinischen Hochschule Hannover bzw. dem Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig vorgenommen. Für die Beurteilung der Kompatibilität der Beschichtungen gegenüber humanen Gingivafibroblasten wird ein speziell für Oberflächen an der Medizinischen Hochschule Hannover entwickeltes Verfahren eingesetzt.

### 3. Modifizierung von Oberflächen

In vielen Einsatzgebieten sind nicht die Werkstoffeigenschaften verwendeter Substanzen von Interesse, sondern vielmehr die Art und Beschaffenheit ihrer Oberflächen. Beispiele sind der Oberflächenschutz gegen Abrasion und Korrosion, Katalysatoren, optische Oberflächen und biomedizinische Einsatzgebiete. Die Oberfläche als Grenzfläche zwischen einem Festkörper und einem Gas oder einer Flüssigkeit definiert die Eigenschaften des Festkörpers gegenüber seiner Umgebung. Daher kommt der chemischen Zusammensetzung von Oberflächen bzw. der Kontrolle der Oberflächenchemie von Materialien durch Belegung mit dünnen oder ultradünnen Beschichtungen eine große Bedeutung zu. Bereits Schichtdicken im Nanometer-Bereich können zur vollständigen Maskierung der Eigenschaften des Substrats führen, so dass die Eigenschaften des Gesamtsystems ausschließlich durch die Beschichtung bestimmt werden. Häufig verwendete Beschichtungssysteme sind selbstorganisierende Monoschichten und Polymerfilme, da vielfältige Methoden zur Filmherstellung bekannt sind und die Zusammensetzung des Beschichtungsmaterials über einen weiten Bereich variiert werden kann.<sup>[21]</sup>

#### 3.1. Anbindung von Alkylphosphonsäuren und ihren Estern an Titandioxid

Alkylphosphonsäuren stellen weit verbreitete Beschichtungsmaterialien für Oxidoberflächen von Metallen und Legierungen wie Zinn, Eisen, Stahl, Aluminium, Kupfer oder auch Titan dar. Die im Vergleich zu Silanen wesentlich erhöhte Hydrolysestabilität von Alkylphosphonaten auf Titan machen diese als Beschichtungsmaterialien speziell für biomedizinische Anwendungen sehr interessant.<sup>[22]</sup>

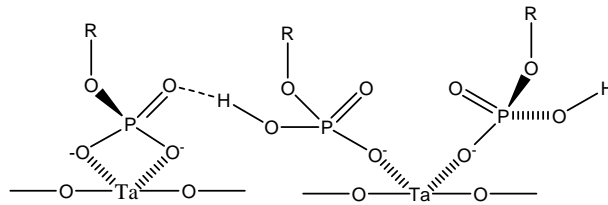
Im Rahmen von Untersuchungen zur Einstellung der Benetzbarkeit von Oberflächen durch Aufbringung von selbstorganisierenden Monoschichten berichteten TOSATTI et al. von der erfolgreichen Bildung selbstorganisierender Monoschichten aus wässrigen Lösungen der Ammoniumsalze von Dodecyl- und 12-Hydroxydodecylphosphat.<sup>[22]</sup> Verwendete Substrate waren unter anderem Titandioxid, Metallfilme von Titan und für Zahnimplantate verwendetes angerautes Titan. Interessante Ergebnisse erzielten auch GAWALT et al., die zeigten, dass die Ausbildung von selbstorganisierenden Monoschichten bestehend aus Alkylphosphonaten auf Titandioxid über wiederholte Sprühauftragung mit anschließender thermischer Fixierung möglich ist. Sie erhielten geordnete Filme von Alkylphosphonat-Spezies, die einer Desorption durch Extraktion sowie mechanischen Peeling-Tests standhielten.<sup>[23]</sup> Als Modellschicht im Rahmen vorbereitender Untersuchungen zur Anbindung von  $\omega$ -funktionalisierten Phosphon-

säuren auf Aluminiumoxid-Oberflächen setzten BUSCH et al. zunächst Octadecylphosphonsäure ein. Sie beobachteten insgesamt die Ausbildung einer stabilen Schicht der Phosphonsäure auf der Substratoberfläche. Zudem zeigten kinetische Studien eine Adsorption des Hauptteils der insgesamt angebunden Menge an Octadecylphosphonsäure innerhalb von Sekunden.<sup>[24]</sup>

Sowohl die Bindungsart von Alkylphosphonaten auf Titanoxid als auch der –mechanismus lassen trotz zahlreicher Untersuchungen nur Spekulationen zu. HOFER et al.,<sup>[25]</sup> MARCINKO et al.<sup>[26]</sup> und SILVERMAN et al.<sup>[27]</sup> beschreiben hohe Oberflächenbeladungen, hohe Ordnung der Alkylketten und die Ähnlichkeit der Monoschichten von Alkylphosphaten bzw. -phosphonaten auf Titanoxid zu Systemen von Thiolen auf Gold. Beide Systeme weisen eine „Tail-up“-Orientierung der oberflächenaktiven Gruppen sowie einen Neigungswinkel der Kohlenwasserstoffketten von 30° zur Oberflächensenkrechten auf. SCHWARTZ et al. zeigten weiterhin durch Quartz Crystal Microgravimetry- (QCM) und Atomic Force Microscopy- (AFM) Untersuchungen, dass der Grad der Anbindung von Alkylphosphonaten an Titandioxid nicht durch die Anzahl der an der Oberfläche vorliegenden Hydroxy-Gruppen limitiert wird. Schlussfolgerung aus dieser Beobachtung ist die Hypothese, dass Phosphorsäuren und Alkylphosphonsäuren die auf der Titandioxid-Oberfläche vorliegenden Hydroxygruppen als Katalysator für die Anbindung nutzen. Dabei erfolgt zunächst eine Reaktion zwischen oberflächenaktiver Gruppe und Ti-OH, im Verlauf der Anbindung aber auch mit Ti-O-Ti-Gruppen. Wird auch der Anbindungsmechanismus nicht genauer beschrieben, so erfolgt doch eine klare Abgrenzung gegenüber der Anbindung von Silanen an oxidierte Oberflächen. Da bei Silanen eine Protonenübertragung von einer Hydroxygruppe an der Oberfläche auf die Silan- Kopfgruppe mit resultierender direkter Oberflächenbindung stattfindet, wird im Gegensatz zu der Anbindung von Phosphonsäuren eine Limitierung des Oberflächenbedeckungsgrads in Abhängigkeit der Hydroxygruppen beobachtet.<sup>[28]</sup>

Eine genauere Vorstellung des möglichen Bindungsmechanismus liefert die Arbeit von TEXTOR et al., welche sich mit der Anbindung von Octadecyl-Phosphorsäure an Tantaloxid beschäftigt. Hier wird von einer starken koordinativen Bindung sowohl mono- als auch bidentalen Charakters zwischen endständiger Phosphatgruppe und Ta(V)-Kationen ausgegangen. Die örtlich begrenzte Ausbildung von Gittern nahezu hexagonaler Struktur wird auf van der Waal'sche Wechselwirkungen zwischen den Kohlenwasserstoffketten sowie auf die Lage der Gitterplätze der Ta(V)-Kationen zurückgeführt. Bei der Formulierung eines hypothetischen Reaktionsmechanismus wird davon ausgegangen, dass Tantalionen an der Oberfläche in Form von Oxiden vorliegen. Dies bedeutet, dass in Folge der Phosphat- bzw.

Phosphonatanbindung die Oxide über den Zwischenschritt eines energetisch günstigen Intermediats durch Phosphat ersetzt werden. Dies geschieht über die initiale Protonierung des Oxids und anschließend in Abbildung 3-1 gezeigter Ausbildung der selbstorganisierenden Monoschicht.<sup>[29]</sup>



**Abbildung 3-1:** selbstorganisierende Monoschicht von Octadecyl-Phosphorsäure auf Tantaloxid<sup>[29]</sup>

Interessant für die vorliegende Arbeit ist zudem die von BAE et al.<sup>[30]</sup> beschriebende Synthese gegenüber sichtbarem Licht empfindlich gemachter Platin/Titandioxid-Photokatalysatoren. Diese Synthese umfasst eine durch Phosphonsäuregruppen vermittelte Anbindung von durch Bipyridyl-Liganden komplexiertem Ruthenium an Titandioxid. Durch Vergleich der Photoaktivitäten von hydrothermal behandelten und nicht hydrothermal behandelten Proben konnten BAE et al. zeigen, dass eine thermische Fixierung zu einer erhöhten Anbindung des Ruthenium-Komplexes führt. IR-spektroskopische Untersuchungen zur Anbindung des Ruthenium-Komplexes lassen auf einen bidentalen oder tridentalen Koordinationskomplex zwischen Phosphonsäuregruppe und Substrat schließen und bestärken damit die eingangs dargestellten Ergebnisse von TEXTOR et al. Neben komplexierten beobachteten BAE et al. aber auch nicht komplexierte  $\text{PO}_2^-$ -Gruppen. Durch thermische Fixierung konnte die Anwesenheit dieser Gruppen unterdrückt werden, die Anbindung des Ruthenium-Komplexes also deutlich verstärkt werden. Im Rahmen von Stabilitätsuntersuchungen führte eine 24stündige Auslagerung der Proben in Wasser zu dem Auftreten der für Phosphonsäuren charakteristischen  $\text{P}=\text{O}$ -Streckschwingung. Aus dieser Beobachtung kann abgeleitet werden, dass die bidentale oder tridentale Anbindung langsam in eine monodentale Anbindung hydrolysiert wird. Dabei zeigte die Anbindung über Phosphonsäuregruppen aber eine deutlich höhere Stabilität als die parallel untersuchte Anbindung über Carbonsäuregruppen.

### 3.2. Polymerfilme auf Oberflächen

Bekannte Verfahren zum Aufbringen dünner Polymerfilme auf Oberflächen sind Tauchprozesse (Dip Coating) und Aufschleudern (Spin Coating). Diese beiden Techniken stellen allerdings auf Physisorption beruhende Verfahren der Adsorption von Polymeren aus Lösung dar und bergen aus diesem Grund das Problem der Desorption und Verdrängung von

Polymere von der Oberfläche durch niedermolekulare Agentien. Eine Vermeidung dieser Problematik kann durch Anbindung der Polymere an die zu beschichtende Oberfläche via kovalenter chemischer Bindung erreicht werden.<sup>[21]</sup> Dies ist als „Grafting onto“ durch die Anbindung des Polymers über funktionelle Gruppen oder als „Grafting from“ durch Kettenstart an der Oberfläche und damit Erzeugung eines Polymers auf der Oberfläche möglich.

### ***Grafting from:***

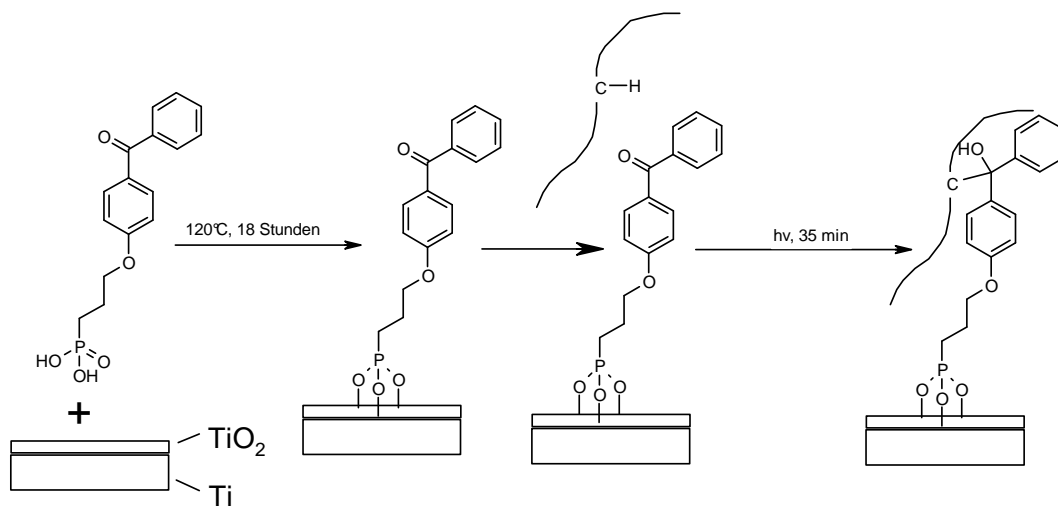
Diese Methode beinhaltet die Immobilisierung von Polymerisationsinitiatoren auf dem mit Polymer zu beschichtendem Substrat. Die Auslösung der Polymerisationsreaktion erfolgt damit direkt an der Oberfläche, d.h. die wachsenden Polymerketten bleiben während der Polymerisation stets kovalent an der Substratoberfläche gebunden.<sup>[31]</sup> Anwendbar ist die „Grafting from“-Methode auf alle Polymere, die durch Kettenwachstum gebildet werden, also z.B. auf freie radikalische,<sup>[32]</sup> kontrolliert radikalische,<sup>[33]</sup> anionische<sup>[34]</sup> und lebend kationische<sup>[35]</sup> Polymerisationen. Kritischer Punkt dieser Methode ist die Darstellung einer geeigneten als Initiator fungierenden Monoschicht, was intensive synthetische Anstrengungen erfordert.<sup>[22]</sup>

### ***Grafting onto:***

Die Methode des „Grafting onto“ zur Aufbringung von Polymeren auf Oberflächen beinhaltet die polymeranaloge Umsetzung zwischen funktionellen Gruppen des Polymers und reaktiven Gruppen, die sich auf der Substratoberfläche befinden. Im Vergleich zum „Grafting from“ ergibt sich eine geringere Ausbeute der Oberflächenreaktion und eine geringere Pfropfdichte der Polymermoleküle auf dem Substrat. Außerdem wird das Schichtdickenwachstum durch die energetisch ungünstige Erhöhung der Polymerkonzentration an der Substratoberfläche begrenzt, d.h. das Verfahren ist auf relativ geringe Schichtdicken beschränkt.<sup>[21]</sup>

Eine vielseitig einsetzbare Methode für die Anbindung von Polymeren ist eine von PRUCKER et al.<sup>[32]</sup> entwickelte und von GRIEP-RAMING et al.<sup>[10]</sup> auf Titansubstrate übertragene Methode zum **photochemischen „Grafting onto“**. Dieses Verfahren beinhaltet die lichtinduzierte Reaktion zwischen photoreaktiven Benzophenongruppen auf der Substratoberfläche und den Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindungen im Rückgrad und in Seitenketten des Polymers. Der große Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, dass es unabhängig ist von der chemischen Natur des Polymers, da die Anbindung nicht über funktionelle Gruppen im

Polymer erfolgt.<sup>[31]</sup> Experimentell umfasst das photochemische „Grafting onto“ die Ausbildung einer Monoschicht eines photochemisch aktiven Benzophenonderivats auf der Substratoberfläche mittels einer modifizierten Form des Dip Coatings mit anschließender thermisch unterstützter kovalenter Anbindung. Im Anschluss wird das Polymer mittels Spin Coating zunächst über Physisorption an die Oberfläche gebunden. 35 minütige Belichtung mit UV-Licht sorgt schließlich für eine photochemische und damit kovalente Anbindung (Abbildung 3-2).



**Abbildung 3-2:** Verfahren des photochemischen Grafting onto

Auf diese Weise gelang HOFER et al. nicht nur die Anbindung von Polystyrol sowie Polyethyloxazolin auf Siliziumdioxid via einer Monoschicht von 4-(3-Chlordimethylsilyl)propyloxybenzophenon,<sup>[25]</sup> sondern GRIEP-RAMING et al. auch die Anbindung von Polyvinyl-N-methylacetamid auf Titanoxid via einer Monoschicht von Benzophenonphosphonsäure.<sup>[10]</sup> Im Zuge ihrer Arbeit beschrieben HOFER et al. ebenfalls den der photochemischen Anbindung über Benzophenonderivate zugrunde liegenden Mechanismus. Die bei Benzophenonen zu beobachtende Absorption von UV-Licht bei einer Wellenlänge von 345 nm ist zurückzuführen auf einen  $n, \pi^*$ -Übergang in der Carbonylgruppe. Das resultierende Triplett ist biradikalischer Natur und besitzt die Möglichkeit, durch Phosphoreszenz in seinen Grundzustand zurückzukehren oder mit Gruppen in seiner Umgebung zu reagieren. Bei letzterer abstrahiert der Sauerstoff der Carbonylgruppe zunächst ein Wasserstoffatom des Reaktionspartners, so dass sich sowohl am ehemaligen Carbonyl-Kohlenstoff als auch am Kohlenstoff des Reaktionspartners Radikale ausbilden. Die anschließende Rekombination dieser beiden Radikale führt zur kovalenten Bindungsbildung. Generell führt photochemisches „Grafting onto“ zu Polymerschichten, für deren maximale Schichtdicke ein linearer Zusammenhang

zwischen Schichtdicke und Gyrationradius und damit dem Molekulargewicht des angebundenen Polymers besteht.<sup>[10, 31]</sup> Wird die maximal mögliche Graftdichte nicht erreicht, so besteht weiterhin eine Abhängigkeit der Schichtdicke von der Dichte der aufgetragenen Monoschicht und der Schichtdicke des mittels Spin Coating aufgetragenen Polymerfilms. Weitere Parameter, welche Einfluss auf die Schichtdicke haben, stellen Belichtungsintensität sowie –dauer dar. Typischerweise wird nach einer Belichtungsdauer von 30 Minuten bei einer Wellenlänge von  $360 \pm 50$  nm mit einer Intensität von  $100 \text{ mW/cm}^2$  eine maximale Schichtdicke erreicht. Da die maximale Schichtdicke über das Molekulargewicht des Polymers bestimmt wird, beinhaltet photochemisches „Grafting onto“ eine gewisse Einschränkung auf Schichtdicken im Bereich weniger Nanometer.

Eine gegenüber dem photochemischen „Grafting onto“ weiter vereinfachte Methode ist die Herstellung von Polymeren, die eine oberflächenaktive Gruppe im Polymerrückgrad tragen und somit direkt an Titan(oxid)oberflächen binden können. Wie ADDEN et al. zeigen konnten, ist nicht nur die Anbindung eines photochemisch aktiven Benzophenonderivates über eine Phosphonsäuregruppe möglich, sondern auch die Anbindung von Copolymeren, die einen Phosphonsäureester als Comonomer enthalten<sup>[20]</sup>. Dabei fungiert der Phosphonsäureester als oberflächenaktive Gruppe. Nach dem Aufbringen des Polymers durch Spin Coating oder Dipping gefolgt von einer thermischen Unterstützung des Anbindungsprozesses entstehen kovalent gebundene, ultradünne Polymerfilme. Dabei besteht für die Polymerfilme eine Abhängigkeit zwischen Phosphonsäureester-Gehalt und resultierender Schichtdicke.

### **3.3. Antimikrobiell wirksame Verbindungen und Oberflächen**

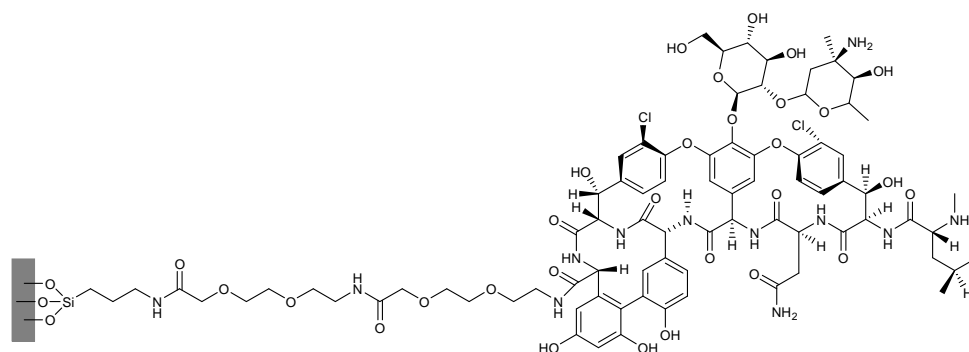
In dem vorliegenden Unterkapitel sollen vier viel versprechende Ansätze zur Herstellung antimikrobieller Oberflächen vorgestellt werden. Diese beinhalten a) die kovalente Anbindung von Antibiotika,<sup>[36-38]</sup> b) die Freisetzung oder kovalente Anbindung von antimikrobiellen Peptiden,<sup>[39-42]</sup> c) die Anbindung kationischer, antimikrobieller Polymere<sup>[11-14, 43]</sup> und d) die Synthese von Materialien, die antimikrobiell wirksame Silberionen freisetzen.<sup>[44, 45]</sup> Um einen Einblick in die für das jeweilige System zugrunde liegenden Ansätze bezüglich der Wirkmechanismen zu geben, werden zunächst die relevanten niedermolekularen Verbindungen vorgestellt, bevor auf polymere Verbindungen und Oberflächenbeschichtungen eingegangen wird.



### 3.3.1. Antibiotika

Weitverbreitete Arzneistoffe zur Behandlung bakterieller Infektionen sind Antibiotika. Diese interagieren mit Strukturen oder greifen in Prozesse ein, die für ein Bakterienwachstum bzw. das Überleben von Bakterien essentiell sind. Konkret liegen die Angriffspunkte von Antibiotika in der Biosynthese bakterieller Zellwand, in der bakteriellen Proteinsynthese oder in der Replikation und den Reparaturprozessen von bakterieller DNA.<sup>[46]</sup> Im Folgenden soll der Wirkungsmechanismus von dem erfolgreich an Titanoberflächen angebundenem Antibiotikum Vancomycin<sup>[36-38]</sup> näher betrachtet werden. Vancomycin zählt zu den Glykoproteinantibiotika und greift in die Biosynthese der Peptidoglykanschicht bakterieller Zellwände ein. Die Peptidoglykanschicht besteht aus einem Netzwerk von Peptid- und Glykansträngen, die durch Amidbindungen miteinander verknüpft sind. Sie verleiht der Zellwand mechanische Stabilität gegenüber wechselnden osmotischen Drücken.<sup>[47]</sup> Durch die Bindung von Peptidoglykan-Vorstufen führt Vancomycin zu einer Verhinderung der anschließenden enzymatischen Umsetzung. Dies resultiert in einer Schwächung der Peptidoglykanschicht infolge fehlender Vernetzung, was schließlich zu einer Lyse des Bakteriums führt.<sup>[46]</sup> Auf molekularer Ebene findet die Bindung von Peptidoglykan-Vorstufen durch Wasserstoffbrücken zwischen Gruppen des Vancomycin-Rückgrades und dem D-Ala-D-Ala Dipeptid-Terminus der Peptidoglykan-Vorstufen statt. Für die Ausbildung dieser Wasserstoffbrücken ist die schalenförmige Konformation des Vancomycins von entscheidender Bedeutung. Vancomycin ist nur effektiv im Einsatz gegen Gram-positive Bakterien. Gram-negative Bakterien können aufgrund der Permeabilitätsbarriere der intakten äußeren Membran nicht angegriffen werden.<sup>[47]</sup>

Dem Arbeitskreis um SHAPIRO gelang die kovalente Anbindung von Vancomycin an Titanoberflächen.<sup>[36-38]</sup> Der erste Reaktionsschritt bestand in der Aminofunktionalisierung des Substrates durch Immobilisierung einer Monoschicht eines entsprechenden Silans. Dieser Ansatz nutzt die nativen Hydroxyl-Funktionalitäten, welche Titanoberflächen reaktiv gegenüber der Anbindung von Silanen machen.<sup>[48]</sup> Die Aminofunktionalisierung der Oberfläche ermöglichte im Rahmen einer anschließenden Festphasen-Peptidsynthese die Anbindung eines flexiblen hydrophilen Linkers. In einem letzten Reaktionsschritt wurde Vancomycin über das terminale Kohlenstoffatom einer Carbonsäuregruppe, die nicht zur antimikrobiellen Aktivität von Vancomycin beiträgt, an die endständige Aminogruppe des Linkermoleküls angebunden (Abbildung. 3-3).



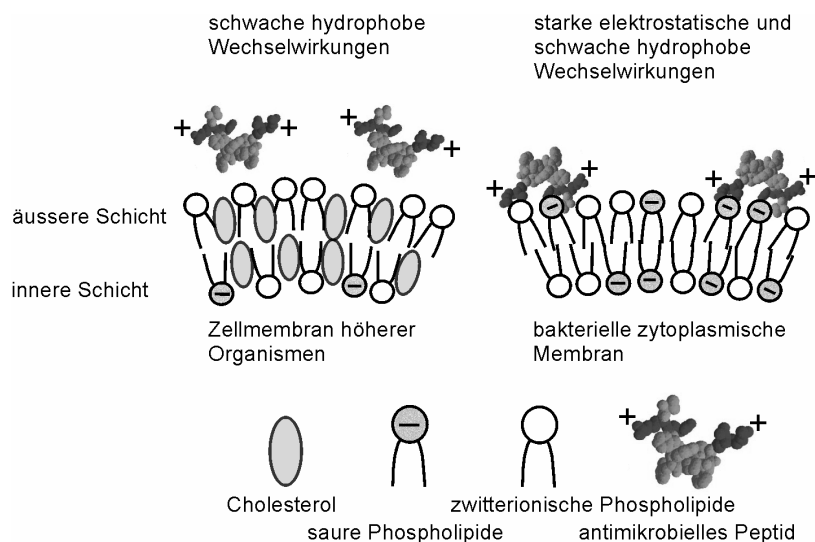
**Abbildung 3-3:** Anbindung von Vancomycin an Titandioxid<sup>2</sup>

Die Anbindung über einen Linker erfolgte in der Absicht, einen Abstand zwischen Titanoberfläche und angebundenem Vancomycin zu gewährleisten, der es dem Vancomycin ermöglicht, seine biologisch aktive Konformation zu bewahren und an Peptidoglykan-Vorstufen in bakterieller Zellmembran zu binden. Die Verteilung kovalent gebundenen Vancomycins an der Oberfläche war gleichmäßig mit wenigen Bereichen erhöhter Konzentrationen. Außerdem zeigte die mit Vancomycin modifizierte Oberfläche Stabilität gegenüber Auslagerung in flüssigen Medien wie Wasser, phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) oder Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM).<sup>[37]</sup> Einbringung in Knochensubstanz simuliert durch das Einpressen in den Femor von Ratten zeigte, dass die Beschichtung ebenfalls stabil gegenüber mechanischer Abrasion ist wie sie im Rahmen einer Implantation auftritt.<sup>[37]</sup> Nach Inkubation Vancomycin-beschichteter Titanstäbchen mit *S. aureus* über 30 Stunden war die Anzahl adhärenter Bakterien basierend auf dem Koloniezählverfahren nach 2, 5, 8, 12 und 30 Stunden signifikant geringer als auf unbeschichteten Kontrollen. Es wurde eine Reduktion der Keimzahl von bis zu 91 ( $\pm 24$ ) % erreicht.<sup>[38]</sup> Ein vergleichbares Bild zeigte sich bei der Inkubation mit *S. epidermidis*. Hier wurde sogar eine Reduktion von  $> 99$  % erreicht. Die mit Vancomycin modifizierten Oberflächen zeigten auch nach vorheriger Inkubation mit Serumproteinen ausgeprägte antimikrobielle Aktivität. Die Anlagerung von Serumproteinen zeigte folglich keine Beeinträchtigung der Wirksamkeit des gebundenen Antibiotikums. Kein antimikrobieller Effekt wurde jedoch nach Inkubation mit dem Gram-negativen Keim *E. coli* erzielt. Dieses Ergebnis zeigt, dass die spezifische Wirksamkeit des Vancomycins durch Anbindung an Titan nicht verändert wird. Gram-positive Bakterien wie *S. aureus* und *S. epidermidis* sind anfällig gegenüber der Wirksamkeit Vancomycin-beschichteter Oberflächen, Gram-negative Bakterien wie *E. coli* hingegen nicht.<sup>[36]</sup>

<sup>2</sup> Bildquelle: Marco Waßmann (MSc.), TU Braunschweig

### 3.3.2. Antimikrobielle Peptide

In der Natur sind antibakteriell wirksame Verbindungen in Form von antimikrobiellen Peptiden bekannt wie z.B. Magainin von der Haut von Fröschen oder Tachyplesin II vom Pfeilschwanzkrebs.<sup>[49]</sup> Ihre Ausschüttung erfolgt als Immunantwort zahlreicher Organismen auf unterschiedlichste Bakterienstämme. Angriffsziel dieser antimikrobiellen Peptide ist die Lipid-Doppelschicht der Zellmembran. Der zugrunde liegende molekulare Mechanismus beinhaltet die Zerstörung pathogener Zellmembran und damit von Permeabilitätsbarrieren, genaue Einzelheiten sind aber noch Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Diskussion. In Betracht gezogen werden drei verschiedene Mechanismen: der „Barrel-stave“-Mechanismus, der „Carpet“-Mechanismus und der „toroidale“-Mechanismus. Weitergehende Informationen können dem Artikel von PAPO und SHAI entnommen werden.<sup>[49]</sup> Bemerkenswert und von hohem Interesse ist die Fähigkeit von antimikrobiellen Proteinen, zwischen prokaryotischen und eukaryotischen Zellen zu unterscheiden (Abbildung 3-4). Schlüssel hierfür ist die unterschiedliche Lipidzusammensetzung der Zellmembranen speziell an der Oberfläche. Die äußere Schicht der Zellmembran von höheren Organismen besitzt bei physiologischem pH-Wert keine resultierende Ladung, da Lipide mit negativ geladenen Kopfgruppen sich im Inneren der Membran befinden und in Richtung Zytoplasma orientiert sind. Bakterielle Zellmembranen hingegen weisen an der Oberfläche einen hohen Anteil negativ geladener Phospholipid-Kopfgruppen auf.<sup>[49, 50]</sup> Typische Merkmale antibakteriell wirksamer Proteine bestehen darin, dass sie kationische Gruppen besitzen und darüber hinaus eine facial-amphiphile Struktur aufweisen, bei der hydrophobe und kationische Gruppen räumlich voneinander getrennt auf unterschiedlichen Seiten einer Helix, eines Faltblattes oder einer Tertiär-Struktur liegen.<sup>[50]</sup>



**Abbildung 3-4:** selektiver Angriff von Zellmembran durch antimikrobielle Peptide (in Anlehnung an Ref. 50)

Ansatzpunkt vieler Arbeitsgruppen ist die Synthese nicht natürlicher Peptide und Polymere, welche Struktur und biologische Eigenschaften von antimikrobiellen Proteinen nachahmen sollen. PORTER et al. berichten über die synthetisch anspruchsvolle Darstellung von facial-amphiphilen Peptiden bestehend aus  $\beta$ -Aminosäuren zur Nachahmung natürlich vorkommender Magainine. Dabei zeigte das von ihnen hergestellte  $\beta$ -Peptid nicht nur eine mit einem synthetischen Magainin vergleichbare antimikrobielle Aktivität gegen nicht pathogene Bakterienstämme von *B. subtilis* und *E. coli*, sondern auch gegen ein Vancomycin resistentes *E. faecium* und ein Methicillin resistentes *S. aureus*. Neben vergleichbarer antimikrobieller Aktivität beobachteten PORTER et al. im Vergleich zum schwach hämolytisch wirksamen Magainin eine noch weiter verringerte hämolytische Aktivität.<sup>[51]</sup> TEW et al. konzentrierten sich auf die Übertragung wesentlicher Strukturprinzipien natürlicher bzw. synthetischer antimikrobieller Peptide auf einfache oligomere Verbindungen wie aromatische Arylamide. Die von TEW et al. entwickelten aromatischen Arylamide beinhalten als strukturelles Merkmal einen Thioether, über den basische Gruppen eingeführt werden können und der dem Molekül durch Ausbildung von Wasserstoffbrücken zu benachbarten Amidgruppen eine planare Anordnung verleiht. Außerdem sorgen eine hydrophobe tertiär-Butylgruppe und eine über den Thioether gebundene polare Aminoethylgruppe für eine facial-amphiphile Struktur. Antimikrobielle und hämolytische Aktivitäten der Oligomere lassen sich durch die Anzahl der Wiederholungseinheiten und die Einführung weiterer funktioneller Gruppen wie z. B. Aminosäuren beeinflussen. Durch Variation dieser Parameter konnten Oligomere hergestellt werden, die eine hohe Selektivität in ihrer Wirkung gegen Bakterienzellen im Vergleich zu eukaryotischen Zellen zeigten.<sup>[52]</sup> Sehr interessant ist insgesamt die Erkenntnis, dass die Aktivität antimikrobieller Substanzen im Wesentlichen von der Gesamtheit ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften abhängt und nicht so sehr von einzelnen Strukturmerkmalen.

GLINEL et al. kombinierten in ihrer Arbeit die antiadhäsiven Eigenschaften modifizierter Oberflächen mit den antimikrobiellen Eigenschaften natürlich vorkommender antimikrobieller Peptide. Dabei stellten sie mittels „Grafting from“ durch oberflächeninitiierte „atom transfer radical polymerization“ (ATRP) an Silizium gebundene Copolymer-Bürsten von 2-(2-Methoxyethoxy)ethylmethacrylat-co-oligo(ethylenglycol)methacrylat her. Die reaktiven Hydroxylgruppen dieser Beschichtung erlaubten dann über einen Heterolinker die Anbindung von mit einer Cysteineinheit modifiziertem Magainin I durch „End-grafting“. Dabei sollten die hydrophilen Polymerbürsten dem gebundenen Peptid eine ausreichende Mobilität ermöglichen, um seine Bioaktivität zu erhalten. Die antimikrobiellen Eigenschaften der auf

diese Weise modifizierten Oberflächen wurde durch Inkubation mit *L. invanovii* und *B. cereus*, zwei in der Lebensmittelindustrie auftretende Keime, untersucht. Es konnten aufgrund der Antifouling-Eigenschaften der Polymerbürsten keine adhärenen Bakterien auf den nur mit Polymerbürsten funktionalisierten Substraten nachgewiesen werden. Auf den mit Magainin I funktionalisierten Oberflächen hingegen wurde eine geringe Bakterienzahl nachgewiesen, die 1% der Gesamtoberfläche nicht überschritt. Es konnte nachgewiesen werden, dass die adhärenen Bakterien zumindest im Falle von *L. ivanovii* vollständig abgetötet waren.<sup>[39]</sup> Dieser Befund spricht für einen Erhalt der Bioaktivität von Magainin I auch nach kovalenter Anbindung an Oberflächen. Die Wirkungsweise von Magainin I erfordert eine Interaktion mit bakterieller Zellmembran, was die Anhaftung abgetöteter Keime an den Oberflächen zur Folge hat.

SHUKLA et al. berichten über die Einlagerung von Ponericin G1 in eine Oberflächenbeschichtung von Silizium mit Hilfe der Layer-by-Layer (LbL) Technik. Da Ponericin G1 wie natürlich vorkommende Peptide im Allgemeinen über eine hohe kationische Ladungsdichte verfügt, bietet sich der Aufbau eines LbL-Films durch elektrostatische Interaktion an. Weiterhin kann durch die Verwendung eines hydrolytisch abbaubaren Filmbestandteils Einfluss auf die Freisetzungsgeschwindigkeit des eingelagerten Peptids genommen werden. Aus diesen Gründen wählten SHUKLA et al. ein Filmsystem, das aus 75 Tetralayern eines als biokompatibel eingestuften Polyanions und eines unter physiologischen pH-Werten positiv geladenen, hydrolytisch abbaubaren Poly( $\beta$ -aminoester)s bzw. des antimikrobiellen Peptids Ponericin G1 besteht. Freisetzungsstudien zeigten, dass die Wahl des Polyanions Einfluss auf die Kinetik der Peptidfreisetzung hat, sowie auf die Menge des insgesamt in die Beschichtung eingelagerten Peptids. Nur Beschichtungen, die Algininsäure als Polyanion beinhalten, konnten eine ausreichende Peptidbeladung erreichen, um antimikrobiell wirksame Konzentrationen freizusetzen und eine Anlagerung von *S. aureus* vollständig zu unterdrücken.<sup>[40]</sup>

STATZ et al. gelang durch die Abscheidung von SAMs auf Titandioxid die Herstellung von Oberflächen, die unempfindlich gegenüber Biofouling sind.<sup>[41, 42]</sup> Dazu setzten sie ein Makromolekül ein, das in zwei Blöcke unterschiedlicher chemischer Funktionalität unterteilt werden kann. Ein kürzerer Block ist aus insgesamt fünf alternierenden Peptideinheiten von 3,4-Dihydroxyphenylalanin (DOPA) und Lysin aufgebaut und stellt eine Nachahmung der adhäsiven Proteine dar, welche von Muscheln zur Anhaftung an Oberflächen gebildet werden. Der zweite, längere Block wird von einem N-substituiertem Glycin-Oligomer gebildet, einem synthetischen Makromolekül, das Peptide mit Antifouling-Eigenschaften nachahmt.<sup>[41]</sup>

Variation der chemischen Eigenschaften ist durch Modifikation der Seitenketten des Peptids möglich.<sup>[42]</sup> Die von den beschriebenen Molekülen ausgebildeten SAMs auf Titanoberflächen zeichnen sich durch hohe Stabilität in wässrigen Medien und Unempfindlichkeit gegenüber enzymatischem Abbau aus. Im Vergleich zu Titan zeigten die beschichteten Oberflächen eine signifikante Reduktion in der Adhäsion von *S. epidermidis* und *E. coli* unter Strömungsverhältnissen wie sie in Kathetern oder kardiovaskulären Stents herrschen. Auch zeigten die Beschichtungen eine mit Polyethylenglycol vergleichbare Unterdrückung der Anlagerung von Proteinen aus wässriger Lösung sowie Resistenz gegenüber der Adhäsion von Fibroblasten der Zelllinie 3T3.<sup>[42]</sup>

### 3.3.3. Kationische Antiseptika

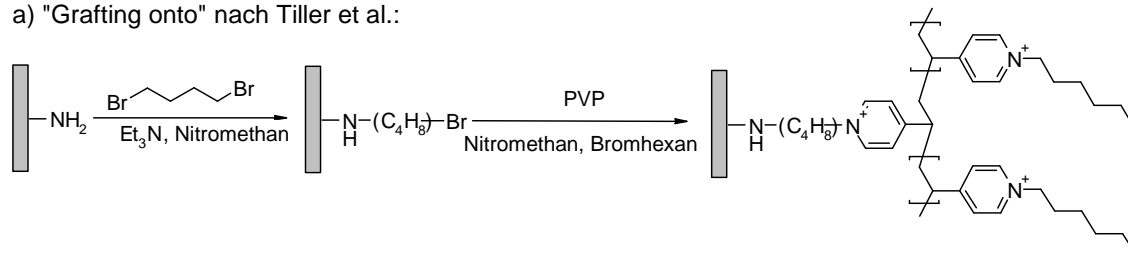
Eine weitere Gruppe antimikrobiell wirksamer Verbindungen sind kationische Antiseptika, die seit über einem halben Jahrhundert im klinischen Alltag und in medizinischen Produkten eingesetzt werden. Unter diese Klasse von Antiseptika fallen quartäre Ammoniumverbindungen wie Cetrimid und Benzalkoniumchlorid, bis-Biguanide wie Chlorhexidin und polymere Biguanide wie Vantocil. Die bakteriellen Zellmembranen tragen an der Oberfläche negative Ladungen. Zudem werden die Säuregruppen in der äußeren Membran Gram-negativer Bakterien häufig durch die Anwesenheit divalenter Kationen wie Magnesium und Calcium stabilisiert. Bei kationischen Antiseptika handelt es sich um Moleküle, die sowohl eine kationische Ladung als auch einen hydrophoben Bereich aufweisen. Basierend auf diesen Strukturmerkmalen werden zwei Wirkungsprinzipien als Ursache für die antimikrobielle Aktivität von kationischen Antiseptika diskutiert. Diese beinhalten zum einen die initiale Ausbildung elektrostatischer Wechselwirkungen mit bakteriellen Zellmembranen über die kationische Ladung und eine anschließende Integration der hydrophoben Bereiche des Moleküls in die zytoplasmische Membran. Zum anderen wird die Verdrängung divalenter Anionen von der äußeren Membran als Ursache der antimikrobiellen Aktivität angesehen.<sup>[53]</sup> Für quartäre Ammoniumverbindungen im Speziellen wird bei geringen Konzentrationen das erste Wirkungsprinzip angenommen. Den initialen Schritt stellt dabei die Anbindung der Moleküle über den positiv geladenen quartären Stickstoff an negativ geladene Kopfgruppen von Phospholipidsäuren der Membranoberfläche dar. Für die durch quartäre Ammoniumverbindungen angegriffenen Membranschichten wird eine Zunahme des Oberflächendrucks beobachtet, was sich in einer Abnahme des Fließvermögens der Zellmembran und der Phasenübergangstemperatur äußert. Die Membran durchläuft einen Übergang vom flüssigen in den flüssig-kristallinen Zustand. Dies führt zu einem Verlust der osmotischen Fähigkeiten

und zu einer Freisetzung von Kaliumionen und Protonen.<sup>[53, 54]</sup> Mittlere Konzentrationen quartärer Ammoniumverbindungen führen zu einer Störung von in der Zellmembran lokalisierten Vorgängen wie Zellatmung, Transport von gelösten Stoffen und Biosynthese der Zellwand.<sup>[55]</sup> In hoher Konzentration formen quartäre Ammoniumverbindungen mizellare Strukturen, die zum Zelltod durch Solubilisierung der Zellmembran und Freisetzung von Zellbestandteilen führen.<sup>[56]</sup>

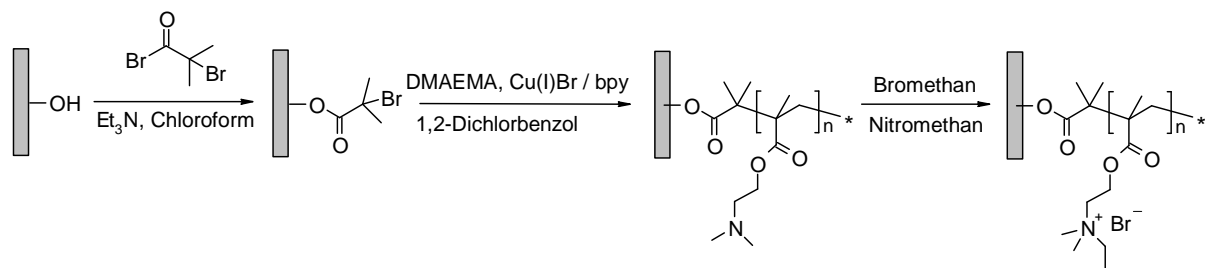
Klassische Wege, Oberflächen durch Anbindung polymerer quartärer Ammoniumverbindungen antimikrobiell wirksam zu machen, beinhalten mehrstufige Synthesewege oder die Anbindung über Silangruppen, die das Risiko der hydrolytischen Spaltung unter physiologischen Bedingungen tragen.<sup>[44]</sup> TILLER et al. gelang die Immobilisierung von quartärnisierter Polyvinylpyridin mittels „Grafting onto“ (Abbildung 3-5a). Hierfür setzten sie zunächst eine aminofunktionalisierte Glasplatte mit Dibrombutan zur Generation von funktionellen Gruppen an der Oberfläche um. Diese wurden dann in einer nucleophilen Substitutionsreaktion zur Anbindung von Poly(4-vinylpyridin) (PVP) in Form einer N-Alkylierung eingesetzt. Parallel wurde in diesem Reaktionsschritt eine N-Alkylierung der nicht im Rahmen der Anbindungsreaktion umgesetzten Pyridingruppen mit Alkylbromiden durchgeführt.<sup>[11]</sup> In der Annahme, dass die hydrophobe Alkylkette ausreichend lang und flexibel sein muss, um bakterielle Zellmembran penetrieren zu können, bei zu hoher Kettenlänge aber inaktive Polymeragglomerate gebildet werden, variierten TILLER et al. die Kettenlänge des Alkylierungsreagenz. Tatsächlich konnte diese Vermutung bestätigt werden, wobei Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid) (hexyl-PVP) sich als am effektivsten erwies. In einer weiterführenden Arbeit erweiterten LIN et al. das Spektrum mit PVP beschichteter Oberflächen auf Polyethylen aus, wobei eine initiale Abscheidung einer Siliziumoxidschicht im Nanometer-Bereich erforderlich war.<sup>[12]</sup>

Die Arbeitsgruppe um MATYJASZEWSKI ging den synthetisch anspruchsvolleren Weg des „Grafting from“, um antimikrobielle Oberflächen basierend auf quartären Ammoniumverbindungen zu generieren (Abbildung 3-5b).<sup>[13, 14]</sup> In einem ersten Reaktionsschritt wurde ein oberflächengebundener ATRP-Initiator durch Veresterungsreaktion bzw. Amidierung der Hydroxyl- bzw. Aminogruppen des Substrats generiert. Diese Substrate wurden dann zur kontrollierten Polymerisation von Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) mittels ATRP eingesetzt. In einem letzten Reaktionsschritt wurde das an der Oberfläche gebundene PolyDMAEMA mittels Ethylbromid quartärnisert.<sup>[13]</sup>

a) "Grafting onto" nach Tiller et al.:



b) "Grafting from" nach Lee et al.:



**Abbildung 3-5:** Oberflächenmodifizierung durch Anbindung polymerer quartärer Ammoniumverbindungen

Dieser für eine klinische Anwendung weniger geeignete Ansatz bietet aber die Vorteile einer über die Grafting-Dichte des Initiators steuerbaren Oberflächendichte des angebundenen Polymers und über die Reaktionszeit steuerbaren Kettenlänge. Außerdem lassen sich die Polymerketten aufgrund der Anbindung über eine Estergruppe durch saure Hydrolyse abspalten und analytischen Untersuchungsmethoden zuführen. Die Methode der kontrollierten ATRP ermöglicht die Herstellung von polymerbeschichteten Oberflächen mit Gradienten in Grafting-Dichte und Kettenlänge zum kombinatorischen Screening der Einflussgrößen Ladungsdichte und Kettenlänge auf die antimikrobielle Aktivität. Inkubation mit *E. coli* zeigte, dass die Einflussgröße Ladungsdichte eine entscheidende Rolle in der antimikrobiellen Aktivität spielt. Bereiche der Oberflächenbeschichtung, deren angebundene Polymerketten zu kurz waren, um bakterielle Zellmembran zu penetrieren, zeigten nach Überschreitung eines Schwellenwertes in der Ladungsdichte dennoch antimikrobielle Wirksamkeit.<sup>[14]</sup> Diese Beobachtung stellt den Wirkungsmechanismus durch Zellpenetration in Frage. Gleichzeitig bietet sie die Möglichkeit des gezielten Einstellens von weiteren Parametern wie die Grafting-Dichte.

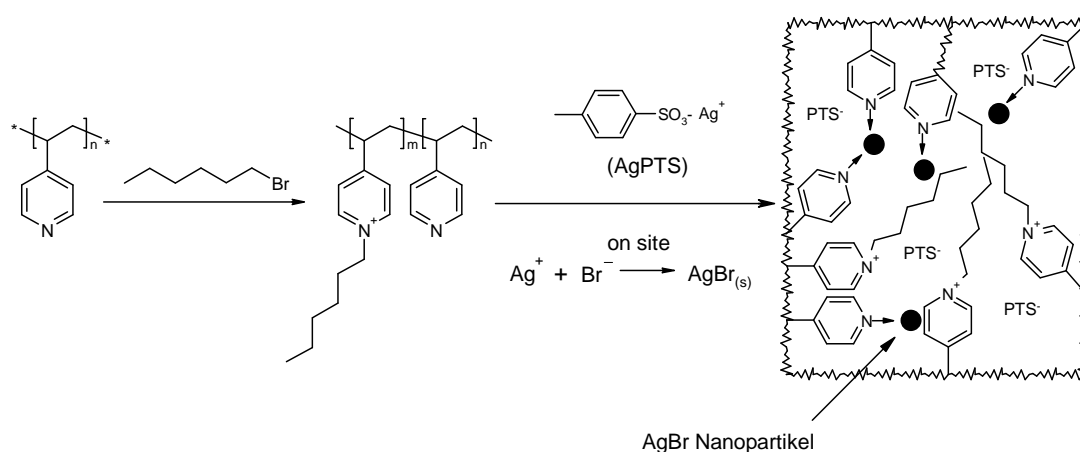
### 3.2.4. Silber

Auch Silber zeigt antiseptische Wirkung. Diese seit über 1200 Jahren bekannte Eigenschaft spielte insbesondere im 19ten Jahrhundert eine wichtige Rolle in der Medizin. Silberlösungen wurden beispielsweise bei Neugeborenen zur Prophylaxe von zur Erblindung führenden Augeninfektionen eingesetzt. Silbernitrat wurde als lokales Adstringends und Mittel zur



Behandlung von Entzündungen der Schleimhäute eingesetzt. Auch in der Behandlung von Brandwunden zeigten Silberverbindungen Erfolg in der Prophylaxe von Folgeinfektionen.<sup>[18]</sup> Die antimikrobielle Aktivität von Silberionen ist auf ihre Fähigkeit, an stickstoff-, sauerstoff- oder schwefelhaltige Elektronendonorguppen zu binden, zurückzuführen. Diese Gruppen finden sich in Bakterienzellen in Form von Aminen, Hydroxylen, Phosphaten, Imidazolen und Thiolen. Die Anbindung von Silber resultiert in einer Komplexierung von Membranen, Enzymen, Proteinen und Nukleinsäuren. So führt zum Beispiel die Komplexierung der in Laktatdehydrogenase enthaltenen Thiolgruppen zu einer Inhibierung des Enzyms.<sup>[19]</sup> Neben der Bildung von Komplexen fallen Silberionen außerdem biologisch relevante Anionen wie Chlorid und können andere Metallkationen von deren Bindungsstellen in Enzymen verdrängen.<sup>[57, 58]</sup> Weiterhin zeigten SCHREUERS und ROSENBERG, dass Silber an zwei Stellen in die Atmungskette eingreift. Zum einen verhindert Silber die Aufnahme anorganischen Phosphats und zum anderen verursacht es einen Verlust von zuvor akkumuliertem Phosphat.<sup>[59]</sup> Silber ist als antimikrobieller Wirkstoff von besonderem Interesse, da es gegen ein breites Spektrum von Bakterien eingesetzt werden kann und dabei geringe Toxizität gegenüber Zellen höherer Organismen zeigt.

SAMBHY et al.<sup>[45]</sup> beschreiben die Entwicklung eines Kompositmaterials, dessen organische Komponente aus dem kationischen Polymer Poly(4-vinylpyridin)-*co*-(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid) besteht, in das durch in-situ Fällungsreaktion Silberbromid eingelagert werden konnte (Abbildung 3-6).

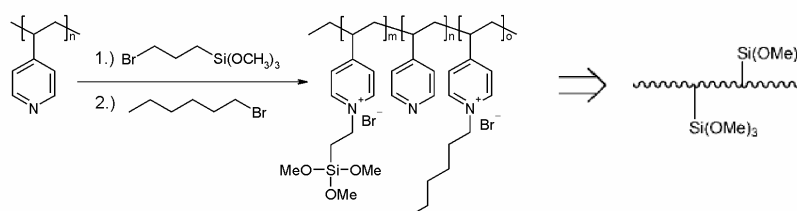


**Abbildung 3-6:** Synthese eines Silberbromid-haltigen Kompositmaterials nach SAMBHY et al.<sup>[45]</sup>

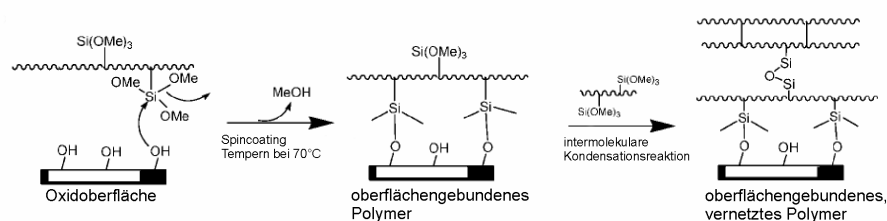
Die Immobilisierung des Komposits blieb zunächst auf Glas beschränkt und beruht auf elektrostatischer Anziehung zwischen negativ geladener Glasoberfläche und kationischen Gruppen im Polymer. Eine modifizierte Form des Kirby Bauer Tests zeigte kein Bakterienwachstum auf oder unterhalb Komposit-beschichteter Substrate sowie eine deutlich

ausgeprägte, das Substrat umgebende Inhibierungszone. Dieser Befund spricht dafür, dass die antimikrobielle Aktivität der Beschichtung nicht nur auf die kontaktbakteriziden Eigenschaften des Polymers zurückzuführen ist, sondern auch auf die Freisetzung von Silberionen. Die Inkubation von mit Polymermatrix beschichteten Substraten mit *S. aeruginosa* in Nährmedium zeigte bereits nach 48 Stunden eine ausgeprägte Biofilmbildung. Mit Kompositmaterial beschichtete Substrate hingegen zeigten auch nach Inkubation über 72 Stunden keine Biofilmbildung. Daher kann angenommen werden, dass die Polymermatrix zwar über kontaktbakterizide Eigenschaften verfügt, Bakterienrückstände aber auf der Oberfläche verbleiben und diese maskieren. Durch die Freisetzung von Silberionen aus dem Kompositmaterial wird eine antimikrobielle Umgebung auch in gewisser Distanz zur Oberfläche geschaffen und somit eine Biofilmbildung vermieden. In einer weiterführenden Arbeit konzentrierten sich SAMBHY et al.<sup>[44]</sup> auf die Notwendigkeit stark adhäsiver Eigenschaften von Beschichtungsmaterialien und strebten eine kovalente Anbindung von Polymeren an Oberflächen an. Sie wählten dazu den Ansatz der Entwicklung eines Polymersystems, das sowohl kovalent an Oberflächen anbinden als auch Vernetzungsreaktionen auf der Substratoberfläche eingehen kann, um unlösliche Beschichtungen im Nanometerbereich zu erhalten. Dies war durch den Einsatz von 1-Brom-propyltrimethoxysilan neben 1-Bromhexan als Quartärnisierungsreagenz und damit durch das Einführen von reaktiven Methoxysilangruppen in das Polymer möglich (Abbildung 3-7a).

a) Einführung reaktiver Methoxysilangruppen:



b) kovalente Polymeranbindung und -vernetzung durch Kondensation:



**Abbildung 3-7:** Polymeranbindung durch Polykondensation von Silangruppen (in Anlehnung an Ref. 44)

Diese Polymere konnten dann durch eine Kondensationsreaktion zwischen Methoxysilan-Funktionalitäten im Polymer und freien Hydroxygruppen auf der Oberfläche vorbehandelter Substrate angebunden werden. Darüber hinaus wurden ebenfalls Vernetzungsreaktionen zwischen Methoxysilangruppen benachbarter Polymerketten auf der Substratoberfläche beobachtet (Abbildung 3-7b). Auf diese Weise konnten diverse Substrate wie Glas, Silizium, Edelstahl, Kupfer, Gold und Parylene-C mit Polymerfilmen versehen werden. Es muss aber angemerkt werden, dass die antimikrobielle Wirksamkeit dieser Systeme erst nach Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln untersucht bzw. nachgewiesen wurde. Die antimikrobielle Wirksamkeit kann somit ausschließlich auf der Freisetzung antimikrobiell wirksamer Silberionen beruhen. Es wurde nicht untersucht, ob die Einführung einer oberflächenaktiven und vernetzbaren Gruppe über eine N-Alkylierungsreaktion am Pyridin zu einem Verlust der antimikrobiellen Aktivität führt. Dies sollte aufgrund der Forschungsarbeit von KAWABATA et al.<sup>[60]</sup> aber in Betracht gezogen werden. Eine Untersuchung der antimikrobiellen Eigenschaften von nicht vernetztem Poly(N-benzyl-4-vinylpyridinium-bromid) und von über Copolymerisation mit Divinylbenzol und anschließender Aushärtung vernetztem Polymer zeigt deutlich unterschiedliches Verhalten. Unvernetztes Poly(N-benzyl-4-vinylpyridinium-bromid) zeichnet sich durch antimikrobielle Aktivität gegenüber diversen zahnmedizinisch relevanten Keimen aus. Das vernetzte Polymer zeigt hingegen lediglich die Fähigkeit, eine große Anzahl lebender Bakterien an seine Oberfläche anzulagern. Eine Begründung für das unterschiedliche Verhalten wird von KAWABATA et al. darin gesehen, dass der für kationische Antiseptika beschriebene Wirkungsmechanismus nach der Phase der Adsorption an bakterielle Zellmembran unterbunden wird. Eine anschließende Penetration bakterieller Zellmembran ist dem vernetzten Polymer nicht möglich.



#### 4. Strategie zur Herstellung antimikrobieller Oberflächenbeschichtungen

Bei der Entwicklung von Materialien zur antimikrobiellen Oberflächenbeschichtung dentaler Implantate müssen neben antimikrobieller Aktivität weitere Anforderungen berücksichtigt werden. So sollten Synthese und Aufbringung des Beschichtungsmaterials mit einem in der praktischen Anwendung realisierbaren Aufwand verbunden sein. Optimal ist also die Gewinnung des Beschichtungsmaterials durch einfache Synthese und die Anbindung an Implantatoberflächen durch einstufige Prozesse wie Spin Coating oder Dipping. Dabei ist eine kovalente Anbindung anzustreben, um eine gute Haltbarkeit der Beschichtung zu gewährleisten und die unerwünschte Freisetzung von Beschichtungsbestandteilen zu vermeiden. Da an dentalen Implantaten in der Hautdurchtrittsregion zwar eine Biofilmbildung verhindert, jedoch die Ansiedlung und Proliferation von Gingivazellen möglichst positiv beeinflusst werden soll, können keine Materialien mit Antifouling-Eigenschaften eingesetzt werden. Eine spezielle Gefahr bei der Entwicklung von Oberflächen, die eine Etablierung parodontal-pathogener Keime verhindern ohne dabei jedoch Antifouling-Eigenschaften zu besitzen, stellt die Maskierung der Oberfläche durch Anlagerung von Serumbestandteilen wie Proteinen dar. Daher sind beispielsweise Systeme, die eine Anlagerung von Proteinen durch die Freisetzung für Fibroblasten nicht toxischer Substanzen verhindern, von besonderem Interesse. Da pathogene Keime in der Mundhöhle in der Regel in Form von Biofilmen auftreten, müssen die eingesetzten Beschichtungen gegen ein breites Spektrum sowohl Gram-positiver als auch Gram-negativer Mikroorganismen wirksam sein.

Die im vorhergehenden Kapitel dargestellten Ansätze zur Herstellung antimikrobiell wirksamer Oberflächenbeschichtungen besitzen für eine klinische Anwendung im Dentalbereich diverse Vor- und Nachteile. So ist die Anbindung von Vancomycin<sup>[36-38]</sup> mit einem mehrstufigen Prozess verbunden und erfordert im Fall von Titanlegierungen eine vorherige Aktivierung der Oberfläche.<sup>[61]</sup> Weiterhin ist das Wirkungsspektrum der Oberflächen auf Antibiotika beschränkt, die über eine nicht zur antimikrobiellen Aktivität beitragenden Gruppe und unter Erhaltung ihrer Konformation angebunden werden können. Auch muss das Wirkungsspektrum des angebundenen Antibiotikums mit dem Anwendungsgebiet übereinstimmen, was bei komplexen Biofilmen in der Mundhöhle nicht gegeben ist. Als positiv sind die Stabilität der Beschichtung<sup>[37]</sup> und die Bewahrung der antimikrobiellen Aktivität auch nach Anlagerung von Serumproteinen<sup>[38]</sup> zu bewerten.

Bezüglich der Einlagerung oder Anbindung von natürlich vorkommenden, antimikrobiellen Peptiden und deren synthetischen Nachahmungen sind sowohl die Nachahmung durch Peptide bestehend aus  $\beta$ -Aminosäuren<sup>[51]</sup> sowie die Anbindung natürlicher Proteine an Polymerbürsten<sup>[39]</sup> und die Einlagerung in LbL-Filme<sup>[40]</sup> zu aufwendig. Lediglich der von STATZ et al. gewählte Ansatz der Anbindung eines gegenüber Biofouling unempfindlichen Polymers über alternierende Peptideinheiten von DOPA und Lysin<sup>[41, 42]</sup> ermöglicht nach der Polymersynthese eine einfache und sehr universelle Anbindung an Oberflächen. Allerdings verhindern die Antifouling-Eigenschaften der resultierenden Beschichtung ebenso wie bei der Anbindung von Peptiden an hydrophile Polymerbürsten nicht nur eine Bakterienadhäsion, sondern auch die Anlagerung von Fibroblasten.<sup>[42]</sup> Dies widerspricht bei einer Anwendung im Dentalbereich dem angestrebten stabilen Wundverschluss zwischen Gingiva und Implantat. Die Einlagerung von antimikrobiellen Peptiden in LbL-Filme<sup>[40]</sup> hat zusätzlich den Nachteil, dass nach hydrolytischem Filmabbau keine antimikrobielle Aktivität der Oberfläche mehr besteht.

Die kovalente Anbindung polymerer quartärer Ammoniumverbindungen bietet die Vorteile eines breiten Wirkungsspektrums und der Vermeidung einer unerwünschten Freisetzung von Filmbestandteilen. Der Ansatz der Arbeitsgruppe um MATYJASZEWSKI, antimikrobielle Oberflächen über „Grafting from“ durch oberflächeninitiierte ATRP zu generieren,<sup>[13, 14]</sup> ist ein für Grundlagenstudien zum Wirkungsmechanismus von polymeren quartären Ammoniumverbindungen gut geeignetes Verfahren. Für eine klinische Anwendung hingegen bietet sich der von TILLER et al. gewählte Weg des „Grafting onto“ an.<sup>[11, 12]</sup> Allerdings ist auch bei diesem Ansatz eine Funktionalisierung der eingesetzten Substrate notwendig. Das von SAMBHY et al. beschriebene Konzept eines silberhaltigen Kompositmaterials, das über reaktive Methoxysilangruppen im Polymer an Substrate anbinden kann,<sup>[44]</sup> hat für die klinische Praxis entscheidende Vorteile. Neben einer einfachen Aufbringung durch Spin Coating oder Dippen bietet die Anwesenheit von N-alkylierten Pyridineinheiten im Polymer und die Einlagerung von Silberbromid-Partikeln das Potenzial eines dualen Wirkungsmechanismus. Insbesondere die beobachtete Unterdrückung einer Biofilmbildung durch die Freisetzung von Silberionen macht die synthetisch einfache in-situ Einlagerung von Silberbromid in eine kontaktbakterizide Polymermatrix zu einem vielversprechenden Ansatz in der Entwicklung von Beschichtungsmaterialien für dentale Anwendungen. Bei der Übertragung auf Titanlegierungen ist aber zu beachten, dass eine Anbindung über Silane nicht hydrolysestabil ist.<sup>[26]</sup> Außerdem ist in der Arbeit von SAMBHY et al. nicht geklärt, ob die

Einführung von oberflächenaktiven Gruppen im Rahmen der N-Alkylierung von Stickstoff mit einem Verlust der kontaktbakteriziden Aktivität verbunden ist.

Ausgehend von diesen Überlegungen werden Beschichtungen mit polymeren quartären Ammoniumverbindungen und silberhaltige Komposite basierend auf hexyl-PVP als vielversprechendes Konzept für die dentale Anwendung eingestuft. Für eine kovalente, dauerhafte Anbindung an Titanoberflächen wird die Oberflächenaktivität von Phosphonsäuren im Rahmen des photochemischen „Grafting onto“<sup>[10]</sup> bzw. die Oberflächenaktivität von Phosphonaten durch Einführung ins Polymerrückgrad und direkter Anbindung genutzt.<sup>[20]</sup> Konkret basieren die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Ansätze zur Herstellung antimikrobieller Oberflächen auf Polymeren und Kompositen, die in drei Gruppen unterteilt werden können:

- a) Homo- und Copolymere von hexyl-VP
- b) silberhaltige Komposite basierend auf Copolymeren von hexyl-VP
- c) vernetzbare Copolymere und silberhaltige Komposite basierend auf hexyl-VP

***potentiell kontaktbakterizide Homo- und Copolymere von hexyl-VP:***

Das bereits von TILLER et al. untersuchte Homopolymer von hexyl-VP ist insoweit von Interesse, als dass zwar eine antimikrobielle Wirksamkeit nachgewiesen wurde, es aber keine eindeutigen Aussagen in Bezug auf zelltoxisches Verhalten gibt. Dieser Punkt soll in der vorliegenden Arbeit geklärt werden. Außerdem soll die Polymeranbindung nicht nach TILLER et al. über Oberflächenfunktionalisierung und anschließender nucleophiler Substitution<sup>[11]</sup> erfolgen, sondern mittels photochemischen „Grafting onto“<sup>[10]</sup>. Dieser Ansatz wurde bereits in vorhergehenden Arbeiten<sup>[62]</sup> verfolgt, eine erfolgreiche Polymeranbindung konnte aber nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Auch konnten Copolymere von hexyl-VP und Dimethyl(2-methacryloyloxyethylphosphonat) (DMMEP) bzw. 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester (VBP) sowie die phosphonathaltigen Homopolymere bereits erfolgreich synthetisiert und an Titanoberflächen angebunden werden.<sup>[62]</sup> Dabei wurden die Phosphonate zum einen verwendet, um eine direkte Anbindung des Polymers an Titan zu ermöglichen, zum anderen aber auch, um Einfluss auf das antimikrobielle Potential und die Biokompatibilität des Polymers zu nehmen. In einer Untersuchung der Fähigkeit polymerbeschichteter Oberflächen, das Wachstum mesenchymaler Progenitor-Stammzellen zu unterstützen, beobachteten ADDEN et al., dass die Homopolymere unterschiedlicher Phosphonate einen deutlich unterschiedlichen Einfluss auf die Zellproliferation nehmen.<sup>[17]</sup>

Dabei zeigten PolyVBP beschichtete Substrate das beste Zellwachstum und PolyDMMEP beschichtete Substrate das schlechteste Zellwachstum. Es wurden beide Comonomere für eine Copolymerisation mit hexyl-VP ausgewählt, um zwei gegenläufige Effekte zu untersuchen. Die Verwendung von VBP erfolgte mit dem Ziel, eine verbesserte Biokompatibilität der Polymere gegenüber humanen Gingivafibroblasten zu erreichen. Gleichzeitig muss aber auch mit einer Verringerung der antimikrobiellen Aktivität gerechnet werden. DMMEP wurde eingesetzt, um seine potenzielle Resistenz gegenüber der Adsorption von Proteinen zu nutzen. Eine Proteinanlagerung stellt zum einen eine Voraussetzung für die Ausbildung von Biofilmen dar und birgt zum anderen die Gefahr der Maskierung der Oberfläche. Gleichzeitig muss durch den Einsatz von DMMEP aber auch mit einer Herabsetzung der Biokompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten gerechnet werden. In der vorliegenden Arbeit werden verschiedene Copolymerzusammensetzungen synthetisiert, um eine umfassende Charakterisierung der Oberflächenbeschichtungen und ein umfassendes Screening auf antimikrobielle Aktivität und auf Biokompatibilität zu ermöglichen. Welche Rolle die Phosphonate VBP und DMMEP neben ihrer Fähigkeit an Titandioxid zu binden, in Bezug auf Biokompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten und Anlagerung von Bakterien spielen, soll durch die Untersuchung der Homopolymere geklärt werden.

#### ***silberhaltige Komposite basierend auf Copolymeren von hexyl-VP:***

Durch partielle N-Alkylierung von Copolymeren basierend auf 4-VP und VBP soll in Anlehnung an SAMBHY et al. eine Polymermatrix hergestellt werden, in die durch anschließende in-situ Reaktion mit einem Silbersalz Silberbromid eingelagert wird. Diese Komposite sollen auf ihre Fähigkeit untersucht werden, durch kovalente Anbindung an Titan Oberflächenbeschichtungen mit dualem Wirkungsmechanismus zu generieren.

#### ***vernetzbare Copolymere und silberhaltige Komposite basierend auf hexyl-VP:***

Die Synthese vernetzbarer Polymere hat den Hintergrund, deutlich höhere Schichtdicken zu erzielen und damit im Falle der Kompositmaterialien höhere Mengen Silberbromid an die Substratoberflächen zu binden. Die Einführung vernetzbarer Gruppen erfolgt im Rahmen der N-Alkylierung von 4-VP, indem neben Bromhexan auch Bromhexen als Alkylierungsreagenz eingesetzt wird. Um beurteilen zu können, ob die Einführung einer vernetzbaren Gruppe über eine N-Alkylierungsreaktion am Pyridin zu einem Verlust der antimikrobiellen Aktivität führt, werden neben den Kompositmaterialien auch die entsprechenden Polymere untersucht.



Als Ausgangsmaterial für die Synthesen dienen Copolymere von 4-VP und DMMEP, die unter der Verwendung von Bromhexan und Bromhexen partiell N-alkyliert werden.



## 5. Grundlagen

### 5.1. Freie radikalische Copolymerisation<sup>[63-65]</sup>

Unter dem Begriff der Copolymerisation wird die Polymerisation zweier oder mehrerer verschiedener Monomereinheiten unter Einbringen der Polymereigenschaften der beteiligten Monomere in das Copolymer verstanden. Entsprechend der Anordnung der verschiedenen Monomereinheiten im Copolymer wird zwischen statistischen, alternierenden und Block- bzw. Pfropfcopolymeren unterschieden.

#### 5.1.1. Die Copolymerisationsgleichung

Die Zusammensetzung eines Copolymers stellt zwar eine Funktion der Monomerenmischung dar, entspricht aber nicht dem Mischungsverhältnis der Monomeren. Sie wird für jeden Zeitpunkt der Polymerisation durch die Copolymerisationsgleichung nach MAYO und LEWIS beschrieben:

$$\frac{m_1}{m_2} = \frac{d[M_1]}{d[M_2]} = \frac{[M_1]}{[M_2]} * \frac{r_1[M_1] + [M_2]}{r_2[M_2] + [M_1]} \quad (1)$$

$m_i$ : molarer Anteil der Monomereinheit i im Polymer

$[M_i]$ : Konzentration von Monomer i in der Monomerenmischung

#### 5.1.2. Die Copolymerisationsparameter

Anhand der Copolymerisationsgleichung lassen sich ebenfalls die im Folgenden erläuterten Copolymerisationsparameter für ein betrachtetes Polymerisationssystem ermitteln. Für die Copolymerisation von zwei Monomeren ergeben sich unter der Annahme irreversibler Wachstumsschritte und einer Polymerisationsgeschwindigkeit, die nur durch die Natur der aktiven Endgruppen (Terminal-Modell) bestimmt wird, vier verschiedene Additionsreaktionen mit zugehörigen Geschwindigkeitskonstanten:



Die bei einer Copolymerisation auftretenden relativen Reaktivitäten der Kettenenden werden anhand von Copolymerisationsparametern ausgedrückt. Diese sind definiert als das Verhältnis der Geschwindigkeitskonstanten von Homo- zu Kreuzwachstum und stellen charakteristische Größen für jedes Monomerenpaar dar:

$$r_1 = \frac{k_{11}}{k_{12}} \quad (6)$$

$$r_2 = \frac{k_{22}}{k_{21}} \quad (7)$$

Eine Copolymerisation von zwei Monomeren wird durch zwei Copolymerisationsparameter beschrieben, wobei für diese folgende Kombinationsmöglichkeiten und damit Rückschlüsse auf die Polymerzusammensetzung denkbar sind (Abbildung 5-1):

- $r_1 = r_2 = 1$ : Beide aktiven Kettenenden addieren beide Monomere mit gleicher Wahrscheinlichkeit. Die vorliegende Polymerisation wird als ideal statistische Copolymerisation bezeichnet. Die Zusammensetzungskurve liegt auf der Diagonalen des Copolymerisationsdiagramms.
- $r_1 > 1; r_2 < 1$ : Monomer 1 wird sowohl an das eigene als auch an das fremde Kettenende bevorzugt addiert. Die Polymerzusammensetzung wird als statistisch bezeichnet, weist aber längere Sequenzen des bevorzugt eingebauten Monomers auf. Die Zusammensetzungskurve nimmt einen bauchigen Verlauf unterhalb bzw. oberhalb der Diagonalen des Copolymerisationsdiagramms an.
- $r_1 > 1; r_2 > 1$ : Das aktive Kettenende bevorzugt in Bezug auf beide Monomere den Homopolymerisationsschritt. Folge sind lange Sequenzen gleichartiger Monomere (Blockcopolymerisation) bis hin zu dem Vorliegen eines Polymergemisches aus reinen Homopolymeren.
- $r_1 < 1; r_2 < 1$ : Das aktive Kettenende bevorzugt die Anlagerung des jeweils fremden Monomers. Folglich weist das Copolymer die Tendenz zum alternierenden Einbau der Monomere in die Kette auf. Im Extremfall, bei dem beide Copolymerisationsparameter Null betragen, entstehen streng alternierende Copolymere. Die Zusammensetzungskurve schneidet die Diagonale des

Copolymerisationsdiagramms im sogenannten Azeotrop-Punkt, an dem die Zusammensetzung der Monomerenmischung der des Polymers entspricht.

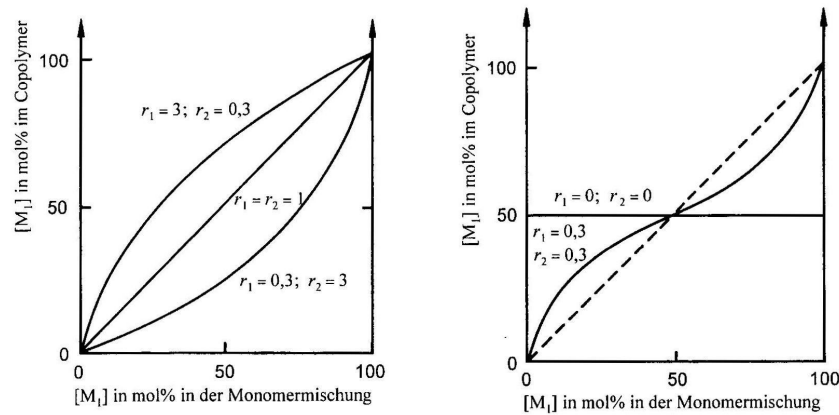


Abbildung 5-1: Copolymerisationsdiagramme mit unterschiedlichen Copolymerisationsparametern<sup>[65]</sup>

### 5.1.3. Bestimmung von Copolymerisationsparametern

Zur Bestimmung der Copolymerisationsparameter können verschiedene Berechnungsmethoden herangezogen werden. Eine Standardmethode ist die nach FINEMANN-ROSS, welche jedoch eine gleichbleibende Konzentration beider Monomere in der Polymerisationslösung voraussetzt. Deswegen darf bei der Bestimmung nur bis zu einem Umsatz von ca. 10% gearbeitet werden. FINEMANN UND ROSS formulierten ausgehend von der Copolymerisationsgleichung nach MAYO und LEWIS folgende Geradengleichung:

$$\frac{(f-1)F}{f} = \frac{r_1 F^2}{f} - r_2 \quad (8)$$

mit  $f = \frac{d[M_1]}{d[M_2]}$  (9)

$$F = \frac{[M_1]}{[M_2]} \quad (10)$$

Aus der Regressionsgeraden der Auftragung von  $\frac{(f-1)F}{f}$  gegen  $\frac{F^2}{f}$  lassen sich aus der Steigung  $r_1$  und aus dem Ordinatenabschnitt  $r_2$  bestimmen.

Die von KELEN und TÜDÖS entwickelte Methode erlaubt Polymerisationsumsätze von bis zu 50%. Durch die Einführung der Hilfsvariablen H und Division durch den Term (H+ $\alpha$ ) wird gegenüber der Methode nach FINEMANN-ROSS eine Spreizung der x-Achse erreicht und somit eine Gleichverteilung der Gewichtung der einzelnen Messwerte.

$$\frac{G}{H + \alpha} = \left( r_1 + \frac{r_2}{\alpha} \right) * \frac{H}{H + \alpha} - \frac{r_2}{\alpha} \quad (11)$$

mit

$$G = \left( \frac{m_1}{m_2} - 1 \right) * \frac{[M_1] \cdot m_2}{[M_2] \cdot m_1} \quad (12)$$

$$H = \left( \frac{[M_1]}{[M_2]} \right)^2 * \frac{m_2}{m_1} \quad (13)$$

$$\alpha = \sqrt{(H_{\max} * H_{\min})} \quad (14)$$

Die Auftragung von  $\frac{G}{H + \alpha}$  gegen  $\frac{H}{H + \alpha}$  liefert die Werte der Copolymerisationsparameter.

#### 5.1.4. Das Q-, e-Schema

Ein von ALFREY und PRICE entwickeltes, semiempirisches System zur Berechnung monomerspezifischer Parameter beruhend auf dem Terminal-Modell ist das Q-, e-Schema. Dieses Modell ordnet jedem Reaktionspartner eine bestimmte Reaktivität Q und Polarität e zu, anhand derer die Reaktionsbereitschaft eines Monomers gegenüber der eines definierten Kettenradikals abgeschätzt werden kann. Unter Kenntnis der systemunabhängigen Q- und e-Werte lassen sich die Copolymerisationsparameter theoretisch nach den folgenden Gleichungen ableiten:

$$r_1 = \frac{Q_1}{Q_2} \exp[-e_1(e_2 - e_1)] \quad (15)$$

$$r_2 = \frac{Q_2}{Q_1} \exp[-e_2(e_2 - e_1)] \quad (16)$$

Um diese zwei Gleichungen mit vier Unbekannten in der Praxis nutzen zu können, erfolgte eine willkürliche Zuordnung des Q-Wertes von eins und des e-Wertes von -0,8 für Styrol als Bezugsmonomer. Auf diese Weise war es möglich anhand von ermittelten Copolymerisationsparametern die Q- und e-Werte anderer Monomere zu bestimmen und tabellarisch zu erfassen. Die Kenntnis der Q- und e-Werte beider Reaktionspartner ermöglicht

neben einer Berechnung der Copolymerisationsparameter auch eine generelle Beurteilung der Copolymerisationsfähigkeit. Monomere mit stark voneinander verschiedenen Q-Werten können nicht copolymerisieren. Ähnliche Q-Werte führen bei ähnlichen e-Werten zu idealazeotropen Copolymerisationen, bei stark verschiedenen e-Werten zu alternierenden Copolymerisationen.

## **5.2. Oberflächenanalytik**

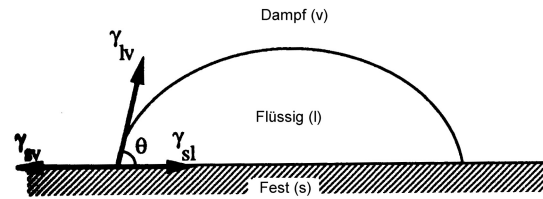
Die Untersuchung von Oberflächen erfordert spezielle Analyseverfahren. Im Folgenden werden die im Rahmen der vorliegenden Arbeit angewandten Methoden der Kontaktwinkelmessung und der Ellipsometrie vorgestellt. Sie dienen zur Überprüfung der Anbindung und zur Bestimmung der Eigenschaften von auf Oberflächen aufgetragenen Monoschichten und Polymerfilmen.

### **5.2.1. Kontaktwinkelmessungen**

Durch die Arbeit von THOMAS YOUNG im frühen 19ten Jahrhundert wurden wichtige Entdeckungen auf dem Gebiet der Benetzbarkeit von Oberflächen gemacht. Diese Zusammenhänge erfreuen sich wachsendem Interesse im Bereich der Materialwissenschaften, der Biomedizin, bei ökologischen Fragestellungen und auch im Ingenieurbereich.<sup>[66]</sup>

#### **5.2.1.1. Benetzbarkeit von Oberflächen**

Kontaktwinkelmessungen ermöglichen die Charakterisierung von Oberflächen im Hinblick auf Benetzbarkeit und Oberflächenspannung. In der Regel findet keine vollständige Benetzung einer Oberfläche durch eine Flüssigkeit statt, sondern letztere bildet einen Tropfen aus, dessen Form durch Grenzflächen- und Oberflächenspannungen in dem System bestimmt wird. Da der Gleichgewichtszustand aller drei Phasen einem Minimum in der freien Gibbschen Energie der Oberfläche entspricht, nehmen Festkörper und Flüssigkeiten eine Form an, die mit einem Minimum an freier Oberfläche und einem Maximum an Volumen verbunden ist, wie bei gewölbten Oberflächen oder bei Tropfen. Der zu beobachtende, definierte Kontaktwinkel, der den Winkel zwischen flüssig-Dampf Grenzfläche und flüssig-fest Grenzfläche darstellt (Abbildung 5-2), lässt auf mikroskopische Eigenschaften der Oberfläche schließen. Hierzu zählen Hydrophilie, Oberflächenrauheit, Inhomogenität und Kontamination.<sup>[67, 68]</sup>



**Abbildung 5-2:** Definition von Kontaktwinkel, Grenzflächen- und Oberflächenspannung<sup>[66]</sup>

Anhand des bestimmten Kontaktwinkels kann zwischen folgenden Bereichen differenziert werden:<sup>[69]</sup>

Nichtbenetzung:	$180^\circ > \theta > 90^\circ$
Benetzung:	$90^\circ > \theta > 0^\circ$
Spreitung:	$\theta = 0^\circ$

### 5.2.1.2. Grenzflächenenergetische Grundgrößen

Der Zustand des durch Kontaktwinkelmessungen zu charakterisierenden Systems lässt sich aus drei grenzflächenenergetischen Grundgrößen ableiten (Abbildung 5-2): Der Grenzflächenspannung  $\gamma_{sl}$ , der Oberflächenspannung  $\gamma_{sv}$  und  $\gamma_{lv}$ , sowie der Adsorptions- oder Benetzungsspannung  $\beta_{sl}$ .<sup>[67]</sup>

Die *Grenzflächenspannung*  $\gamma_{sl}$  beschreibt die Kraft, welche an einer gedachten, in der Grenzfläche zwischen zwei Phasen befindlichen Linie wirkt. Da sie sich als Anziehungskraft zwischen den Molekülen der Flüssigphase und der Festkörperphase äußert, ist sie mit dem Begriff der Adhäsion besetzt.

Die *Oberflächenspannung*  $\gamma_{sv}$  und  $\gamma_{lv}$  repräsentiert den Sonderfall der Grenzflächenspannung von Festkörpern oder Flüssigkeiten gegen Luft. Sie ist gleich der Arbeit, die zu einer Vergrößerung der Oberfläche geleistet werden muss, dividiert durch den Zuwachs der Fläche und steht unter dem Begriff der Kohäsion.

Die *Adsorptions- oder Benetzungsspannung*  $\beta_{sl}$  ist charakterisiert durch die Arbeit, welche zur Benetzung einer Festkörperoberfläche von z.B.  $1 \text{ cm}^2$  mit einer Flüssigkeit definierter Oberflächenspannung aufzubringen ist.

### 5.2.1.3. Die Young'sche Gleichung

Die Adsorptions- oder Benetzungsspannung ist aus den Grundgrößen in Form der Young'schen Gleichung formulierbar:



$$\beta_{sl} = \gamma_{sv} - \gamma_{sl} = \gamma_{lv} \cos \theta \quad (17)$$

Die Young'sche Gleichung ist über die Änderung der freien Gibbschen Energie der Oberfläche  $G^s$  eines Tropfens, die eine leichte Verschiebung des Tropfens und damit eine Änderung der vom Tropfen bedeckten Oberfläche  $\Delta A$  begleitet, ableitbar.<sup>[70]</sup>

$$\Delta G^s = \Delta A(\gamma_{sl} - \gamma_{sv}) + \Delta A \gamma_{lv} \cos(\theta - \Delta \theta) \quad (18)$$

Minimierung der Gibbschen Energie bei Annahme eines Gleichgewichtszustandes zwischen Gas-, Fest- und Flüssigphase

$$\lim_{\Delta A \rightarrow 0} \frac{\Delta G^s}{\Delta A} = 0 = \gamma_{sl} - \gamma_{sv} + \gamma_{lv} \cos \theta \quad (19)$$

führt zu der von Young formulierten Gleichung, die den Kontaktwinkel definiert:

$$\cos \theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}} \quad (20)$$

#### 5.2.1.4. Kontaktwinkel-Hysterese

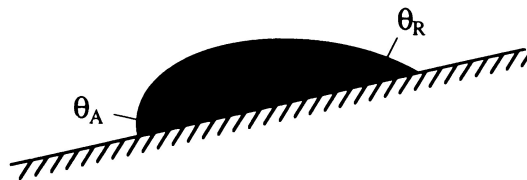
Der durch die Young'sche Gleichung beschriebene Kontaktwinkel stellt unter Annahme eines Gleichgewichtes von Fest-, Flüssig- und Gasphase eine eindeutige Funktion der Grenz- bzw. Oberflächenspannungen dar. Experimentell beobachtete Kontaktwinkel erfüllen diese Bedingung aufgrund von Oberflächenrauhigkeit, Heterogenität der Oberfläche und Kontaminationen nicht. Daher wird nicht ein einziger, definierter, sondern ein Bereich von Kontaktwinkeln beobachtet. In der Regel werden größter und kleinster gemessener Kontaktwinkel als  $\theta_{adv}$  (advancing angle) und  $\theta_{rec}$  (receding angle) angegeben. Die zwischen diesen beiden Winkeln liegende Differenz wird als Kontaktwinkel-Hysterese bezeichnet.<sup>[70]</sup>

#### 5.2.1.5. Die Tilting-Plate Methode

Die experimentellen Methoden zur Kontaktwinkelbestimmung sind vielfältig. Hier vorgestellt werden soll nur die im Rahmen der vorliegenden Arbeit durchgeführte Tilting-Plate Methode. Zurückgehend auf ADAM und JESSON<sup>[71]</sup> liefert diese Art der Kontaktwinkelbestimmung die am besten reproduzierbaren Werte. Ursprünglich wurde eine Platte des zu untersuchenden Materials in eine Flüssigkeit eingebracht und der Eintauchwinkel so eingestellt, dass eine

glatte Flüssigkeitsoberfläche ohne Meniskusbildung entstand. Der zwischen Platte und Oberflächenspiegel beschriebene Winkel stellt in diesem Fall den Kontaktwinkel dar. Da große Feststoffproben und hohe Flüssigkeitsvolumina aber häufig einen limitierenden Faktor darstellten, wurde dazu übergegangen, einen Tropfen der Messflüssigkeit auf die zu untersuchende Oberfläche zu geben, welche gegenüber der Horizontalen gekippt ist (Abbildung 5-3).

Die mit einem Mikroskop und einem Goniometer ausgestattete Apparatur ermöglicht ein direktes Ablesen des Kontaktwinkels. Es werden der vordere (advancing) Kontaktwinkel und der hintere (receding) Kontaktwinkel abgelesen und die Kontaktwinkel-Hysterese auf diese Weise bestimmt.



**Abbildung 5-3:** Tilting-Plate Methode zur Bestimmung von vorderem und hinterem Kontaktwinkel<sup>[66]</sup>

### 5.2.2. Ellipsometrie<sup>[72]</sup>

Die Ellipsometrie stellt eine etablierte, optische Methode dar, die zerstörungsfrei arbeitet. Sie dient zur Bestimmung von optischen Konstanten (Brechungsindex, Extinktionskoeffizient) und Schichtdicken dünner Filme. Das zugrunde liegende Messprinzip der Ellipsometrie ist die Bestimmung der Änderung des Polarisationszustandes einer elektromagnetischen Welle bei Reflektion an einer Probe. Das Verfahren bietet eine Schichtdickenauflösung bis in den Nanometerbereich.

#### 5.2.2.1. Physikalische Grundlagen

Wird Licht als elektromagnetische Welle beschrieben, so stellt es eine transversale Welle dar, die sich aus einem elektrischen und einem magnetischen Feldvektor zusammensetzt. Diese Feldvektoren stehen sowohl senkrecht zueinander als auch senkrecht zur Ausbreitungsrichtung der Welle. Die Beschreibung einer elektromagnetischen Welle kann über den magnetischen oder den elektrischen Feldvektor erfolgen, wobei hier im Weiteren der elektrische Feldvektor herangezogen wird (Abbildung 5-4).

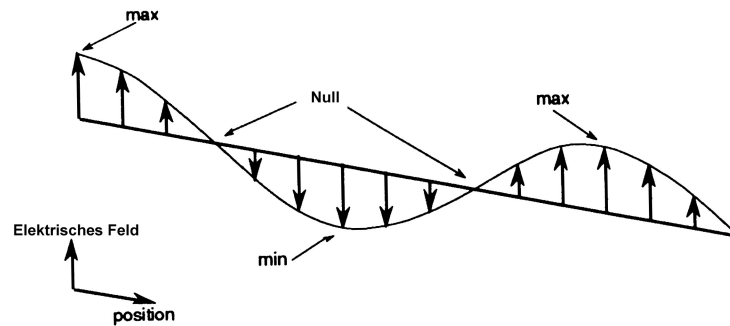


Abbildung 5-4: schematische Darstellung einer elektromagnetischen Welle<sup>[72]</sup>

Die Definition der Feldstärke  $A$  in Abhängigkeit der Zeit und des Ortes erfolgt nach:

$$A = A_0 \sin\left(-\frac{2\pi}{\lambda}(x - vt) + \xi\right) \quad (21)$$

mit  $A$ : elektrische Feldstärke

$v$ : Lichtgeschwindigkeit

$A_0$ : Amplitude

$\lambda$ : Wellenlänge

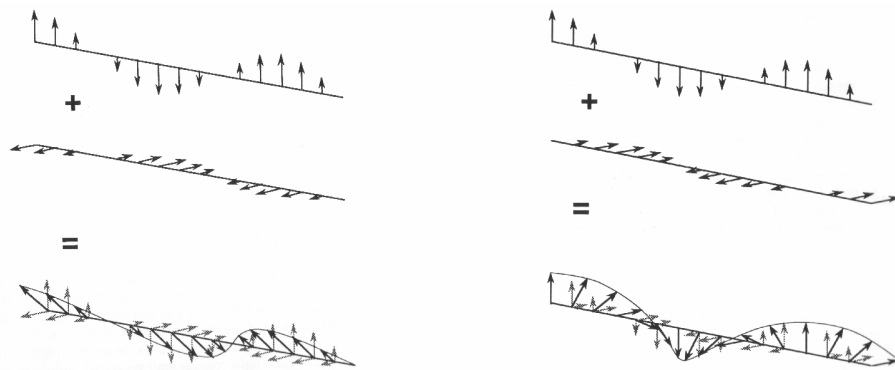
$x$ : zurückgelegte Weglänge

$\xi$ : Phasenunterschied zweier Wellen

$t$ : Zeit

#### 5.2.2.2. Polarisation von Licht

Wird Licht als elektromagnetische Welle definiert, so stellt es eine transversale Welle dar, d.h. die Schwingungsrichtung ist senkrecht zur Ausbreitungsrichtung orientiert. Da sich aber beliebig viele Ebenen senkrecht zur Ausbreitungsrichtung definieren lassen, ist eine beliebige Verteilung der Schwingungsrichtungen über diese Ebenen möglich. Das resultierende Licht ist unpolarisiert. Reduziert man die Schwingung auf nur eine der möglichen Ebenen, erhält man linear polarisiertes Licht. Die Darstellung jeder beliebigen linear polarisierten Welle ist als phasendifferenzfreie Überlagerung zweier linear polarisierter Wellen mit senkrecht zueinander stehenden Feldrichtungen möglich (Abbildung 5-5). Werden zwei linear polarisierte Wellen mit gleicher Ausbreitungsrichtung und gleicher Wellenlänge, aber einer Phasenverschiebung von  $90^\circ$  überlagert, so dreht sich die Amplitude der resultierenden Welle mit gleich bleibendem Betrag um die Achse der Ausbreitungsrichtung. Es entsteht Licht mit zirkularer Polarisation (Abbildung 5-5). In dem Fall von elliptisch polarisiertem Licht nimmt die Phasenverschiebung einen von  $90^\circ$  abweichenden Wert an.

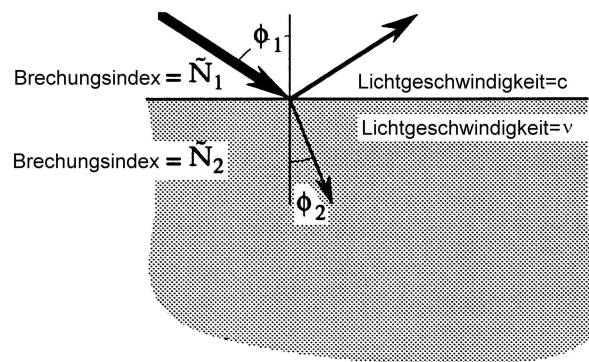


**Abbildung 5-5:** schematische Darstellung einer linear polarisierten Lichtwelle (links) und einer zirkular polarisierten Lichtwelle (rechts)<sup>[72]</sup>

Bei der Reflektion von linear polarisiertem Licht an einer Metalloberfläche ist eine unterschiedlich stark ausgeprägte Phasenverschiebung der parallel und der senkrecht zur Einfallsebene orientierten Komponenten zu beobachten. Das aus der Reflektion resultierende Licht ist somit elliptisch polarisiert. Dieser Zusammenhang stellt eine wesentliche Grundlage der Ellipsometrie dar.

### 5.2.2.3. Wechselwirkung von Licht mit Materie

Bei dem Übergang eines Lichtstrahls von einem Medium in ein zweites treten unterschiedliche Phänomene wie die für die Ellipsometrie entscheidende Reflektion und Lichtbrechung auf (Abbildung 5-6).



**Abbildung 5-6:** Lichtreflektion und -brechung an einer Grenzfläche zwischen Luft und Substrat<sup>[72]</sup>

Diese Vorgänge werden durch Reflektions- bzw. Brechungsgesetze beschrieben, in denen der komplexe Brechungsindex  $\tilde{N}$  eingeht. Dieser beschreibt die Wechselwirkung des Lichts mit dem Material und stellt mathematisch eine Kombination aus Imaginär- und Realteil dar:

$$\tilde{N} = n - ik \quad (22)$$

mit  $n$ : Brechungsindex

$k$ : Extinktionskoeffizient

wobei  $n$  definiert ist als:

$$n = \frac{c}{v} \quad (23)$$

mit  $c$ : Lichtgeschwindigkeit  $v$ : Geschwindigkeit des Lichts im betrachteten Medium

Das Reflektionsgesetz besagt, dass der Einfallswinkel gleich dem Ausfallswinkel ist. Für die Lichtbrechung gilt das Snell'sche Gesetz:

$$\tilde{N}_1 \sin \phi_1 = \tilde{N}_2 \sin \phi_2 \quad (24)$$

Da im Falle eines Dielektrikums und damit z.B. für Luft oder Nichtleiter der Extinktionskoeffizient gleich Null ist, vereinfacht sich das Brechungsgesetz zu:

$$n_1 \sin \phi_1 = n_2 \sin \phi_2 \quad (25)$$

Üblicherweise beträgt der Extinktionskoeffizient zwar für ein Medium Null, weicht für das zweite aber von Null ab. Daher geht  $\tilde{N}$  als komplexer Term ein.

Der Tatsache, dass infolge der Reflektion eines Lichtstrahls an einer Oberfläche eine Verschiebung der Intensitätsverhältnisse von senkrechten und parallelen Anteilen stattfindet, liegt die Definition des für jeden Materials charakteristischen Reflektionsgrads bzw. der Fresnel Koeffizienten zugrunde. Die Fresnel Koeffizienten  $r_{12}^p$  und  $r_{12}^s$  beschreiben das Verhältnis der Amplitude der reflektierten Welle zur Amplitude der eingefallenen Welle unter der Voraussetzung, dass in dem betrachteten System nur eine Grenzfläche vorliegt:

$$r_{12}^p = \frac{\tilde{N}_2 \cos \phi_1 - \tilde{N}_1 \cos \phi_2}{\tilde{N}_2 \cos \phi_1 + \tilde{N}_1 \cos \phi_2} \quad r_{12}^s = \frac{\tilde{N}_1 \cos \phi_1 - \tilde{N}_2 \cos \phi_2}{\tilde{N}_1 \cos \phi_1 + \tilde{N}_2 \cos \phi_2} \quad (26)$$

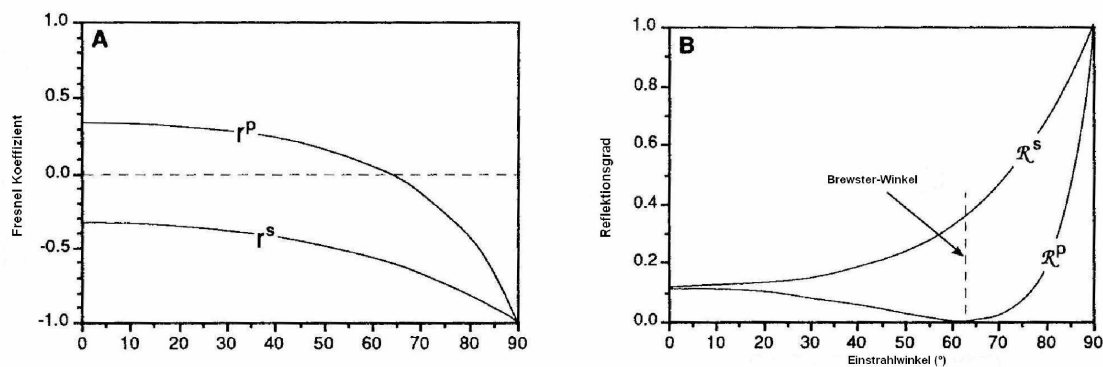
wobei der Superscript  $p$  für Lichtwellen mit paralleler Orientierung zur Einfallsebene steht und der Superscript  $s$  für Wellen mit senkrechter Orientierung.

Der Reflektionsgrad  $R^p$  bzw.  $R^s$  gibt das Verhältnis von reflektierter zu eingefallener Lichtintensität an:

$$R^p = |r^p|^2 \quad R^s = |r^s|^2 \quad (27)$$

Sowohl der Reflektionsgrad als auch die Fresnel Koeffizienten stellen eine Funktion des Licht-Einfallwinkels dar.

Handelt es sich bei der reflektierenden Oberfläche um ein Dielektrikum, so ist für den Fresnel Koeffizienten, der die Komponenten parallel zur Einfallsebene beschreibt, mit steigendem Einfallswinkel ein Verlauf von positiven zu negativen Zahlenwerten zu beobachten. Für den Fresnel Koeffizienten, der die Komponenten senkrecht zur Einfallsebene beschreibt, nehmen die Zahlenwerte mit steigendem Einfallswinkel ebenfalls ab, sind aber über den gesamten Messbereich negativ (Abbildung 5-7A).



**Abbildung 5-7:** Reflektionsgrad (B) und Fresnel Koeffizienten (A) in Abhängigkeit des Einfallswinkels<sup>[72]</sup>

Die Auftragung von Reflektionsgrad gegen Einstrahlwinkel weist unter dem Winkel, an dem der Fresnel Koeffizient der parallelen Komponenten durch Null verläuft, ebenfalls einen Wert von Null auf (Abbildung 5-7B). Dieser spezielle Winkel wird Brewster-Winkel genannt und ist definiert als:

$$\tan \phi_1 = \frac{n_2}{n_1} \quad (28)$$

Entspricht der Einstrahlwinkel des Lichts dem Brewster-Winkel, so wird das parallel zur Einfallsebene polarisierte Licht vollständig transmittiert. Das resultierende reflektierte Licht enthält somit ausschließlich senkrecht zur Einfallsebene polarisierte Bestandteile.

Stellt die reflektierende Oberfläche kein Dielektrikum dar, beispielsweise im Falle eines Metalls, so werden die Fresnel Koeffizienten zu komplexen Zahlen, der Reflektionsgrad bleibt eine reale Zahl. Die beschriebene Winkelabhängigkeit der Fresnel Koeffizienten und des Reflektionsgrades bleibt tendenziell erhalten, allerdings nimmt der Reflektionsgrad an keinem Punkt den Wert Null an. Der Winkel, unter dem  $R^p$  einen minimalen Wert annimmt, wird Pseudo-Brewster-Winkel genannt.

#### 5.2.2.4. Mehrschichtsysteme

Bisher wurden ausschließlich Systeme betrachtet, die nur eine Grenzfläche aufweisen. Bei den im Rahmen der vorliegenden Arbeit betrachteten Schichtsystemen handelt es sich aber um Mehrschichtsysteme. Der zu beobachtende reflektierte Lichtstrahl setzt sich aus mehreren Komponenten zusammen. Einen Anteil stellt der direkt an der obersten Schicht reflektierte Lichtstrahl dar. Lichtanteile, die durch die oberste Schicht gebrochen werden, erfahren an der darunter liegenden Grenzfläche eine erneute Brechung bzw. Reflektion mit Verschiebung von p- und s-Anteilen. An dieser Grenzfläche reflektierte Anteile erfahren vor Austritt aus dem Medium eine erneute Brechung und damit Phasenverschiebung (Abbildung 5-8). Die resultierende Polarisation des Lichts ist charakteristisch für das vorliegende Schichtsystem in Hinsicht auf Schichtenaufbau und Oberflächeneigenschaften.

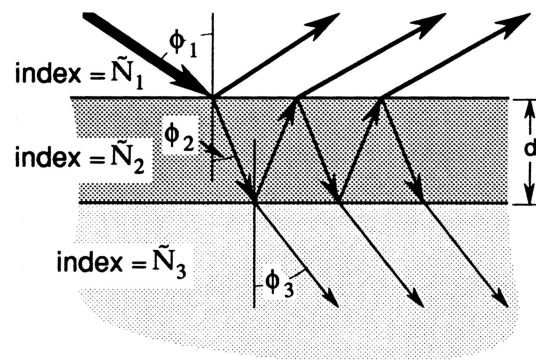


Abbildung 5-8: Reflexion und Brechung in einem Mehrphasensystem<sup>[72]</sup>

#### 5.2.2.5. Messgrößen in der Ellipsometrie

Das Prinzip der Ellipsometrie ist es, über Messen der Winkel  $\Delta$  und  $\Psi$  Brechungsindices und Schichtdicken von Filmen zu bestimmen. Dabei beschreibt  $\Delta$  die Änderung der Phasendifferenz zwischen paralleler und senkrechter Komponente der Lichtwelle infolge der Reflexion an einer Oberfläche. Diese Änderung der Phasendifferenz ist gleichzusetzen mit einer Änderung der Polarisation:

$$\Delta = \delta_1 - \delta_2 \quad (29)$$

mit  $\delta_1$ : Phasendifferenz zwischen paralleler und senkrechter Komponente der einfallenden Lichtwelle

$\delta_2$ : Phasendifferenz zwischen paralleler und senkrechter Komponente der reflektierten Lichtwelle

$\psi$  repräsentiert den Winkel, dessen Tangens dem Verhältnis der Beträge der Reflektionskoeffizienten bei totaler Reflexion entspricht:

$$\tan \psi = \frac{|R^p|}{|R^s|} \quad (30)$$

Anhand der Fundamentalgleichung der Ellipsometrie

$$\tan \psi e^{i\Delta} = \frac{R^p}{R^s} \quad (31)$$

kann nach experimenteller Bestimmung von  $\Delta$  und  $\psi$  das komplexe Verhältnis der Reflektionskoeffizienten bei totaler Reflexion und unter Verwendung eines korrekten Modells weiterhin die Brechungsindices und Schichtdicken der untersuchten Probe bestimmt werden.

#### 5.2.2.6. Aufbau und Messprinzip eines Ellipsometers

Die bei modernen Ellipsometern zu findende Anordnung der optischen Instrumente bzw. deren Funktionen sind folgendermaßen zu beschreiben (Abbildung 5-9):

Als Lichtquelle (1) für monochromatisches Licht dient ein Laser mit nachgeschaltetem Polarisator (2), der für eine lineare Polarisierung des Lichts sorgt. Bevor das Licht auf die zu untersuchende Oberfläche fällt und an ihr reflektiert wird, trifft es auf eine  $\lambda/4$ -Platte (3), die in einem Winkel von  $45^\circ$  zu dem linear polarisierten Licht steht. Bei dieser Platte handelt es sich um ein anisotropes optisches Element, das eine schnelle und -senkrecht zu dieser- eine langsame Durchtrittsachse für Lichtwellen besitzt. Auf diese Weise werden zwei Komponenten einer Welle, die in Phase waren, nach Durchtritt der Welle durch die  $\lambda/4$ -Platte um  $45^\circ$  zueinander verschoben. Es wird folglich elliptisch polarisiertes Licht erzeugt.

Die Reflexion des Lichtstrahls an der Probenoberfläche kann grundsätzlich zu einer Phasenverschiebung von 0 bis  $360^\circ$  führen, wobei beide oder nur eine Komponente des Lichts abgeschwächt werden können. Die Polarisation und die Lichtintensität werden durch Rotation von Polarisator und Analysator (5) ermittelt. Dabei werden Polarisator und Analysator so lange gegeneinander gedreht, bis keine Lichtintensität mehr am Photomultiplier (6) gemessen werden kann (Null-Ellipsometrie). Gegenüber der Anordnung der optischen Elemente in älteren Ellipsometern, bei denen die  $\lambda/4$ -Platte vor dem Analysator platziert ist, bietet die



beschriebene Anordnung in moderneren Ellipsometern eine Erleichterung in der Berechnung von  $\Delta$  und  $\Psi$ . Durch den Zusammenhang zwischen der Einstellung von Polarisator und Analysator, können die Messungen auf einen Winkelbereich von  $-45^\circ$  bis  $135^\circ$  bzw.  $-135^\circ$  bis  $45^\circ$  für den Polarisator und  $0^\circ$  bis  $90^\circ$  bzw.  $-90^\circ$  bis  $0^\circ$  für den Analysator beschränkt werden. Dabei können beide für Polarisator bzw. für Analysator genannten Messbereiche genutzt werden, um durch Mittelwertbildung den Messfehler zu reduzieren.

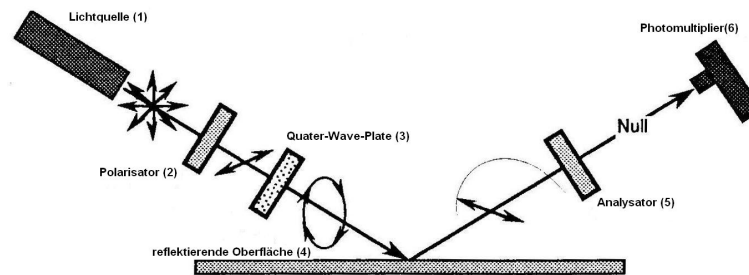


Abbildung 5-9: Aufbau eines Ellipsometers<sup>[72]</sup>

#### 5.2.2.7. Bestimmung von Materialeigenschaften anhand optischer Parameter

Die Einstellwinkel von Polarisator, Analysator und  $\lambda/4$ -Platte, welche zu einer gemessenen Lichtintensität von Null führen, stehen mit den optischen Eigenschaften der Probe in Beziehung. Computer unterstützte Modellsysteme machen die Berechnung von komplexen Brechungsindices und von Filmdicken möglich. Handelt es sich bei der zu untersuchenden Probe um einen einfachen Film, der auf einem Substrat aufgebracht ist, so erfolgt die Bestimmung der Filmdicke in zwei Schritten. Im ersten Schritt werden mittels ellipsometrischer Messungen  $\Delta$  und  $\Psi$  des Substrates bestimmt. Hieraus lässt sich das komplexe Verhältnis der Reflektionskoeffizienten bei totaler Reflexion bestimmen. Kenntnis dieses Verhältnisses ermöglicht wiederum die Bestimmung des komplexen Brechungsindex des Substrates nach:

$$\tilde{N}_3 = \tilde{N}_1 \tan \phi_1 \sqrt{1 - \frac{4\rho \sin^2 \phi_1}{(\rho + 1)^2}} \quad (32)$$

Diese Gleichung kann zur Eliminierung von komplexen Termen in die zwei folgenden Gleichungen aufgetrennt werden, anhand derer sich Brechungsindex und Extinktionskoeffizient des Substrats bestimmen lassen:

$$n_3^2 - k_3^2 = n_1^2 \sin^2 \phi_1 \left[ 1 + \frac{\tan^2 \phi_1 (\cos^2 2\psi - \sin^2 \Delta \sin^2 2\psi)}{(1 + \sin 2\psi \cos \Delta)^2} \right] \quad (33)$$

$$2n_3k_3 = \frac{n_1^2 \sin^2 \phi_1 \tan^2 \phi_1 \sin 4\psi \sin \Delta}{(1 + \sin 2\psi \cos \Delta)^2} \quad (34)$$

In einem zweiten Schritt erfolgt die Erstellung von  $\Delta / \Psi$ -Trajektorien für Filme auf dem untersuchten Substrat. Unter Kenntnis von Brechungsindex und Extinktionskoeffizient des Substrats sowie Definition von Brechungsindex und Extinktionskoeffizient (bei transparenten Filmen gleich Null) des Filmmaterials kann eine Datentabelle der Erwartungswerte für  $\Delta$  und  $\Psi$  in Abhängigkeit der Schichtdicke des Films berechnet werden. Eine graphische Auftragung der Schichtdicke gegen die Erwartungswerte von  $\Delta$  und  $\Psi$  wird als  $\Delta / \Psi$ -Trajektorie bezeichnet (Abbildung 5-10).

Werden nun mittels ellipsometrischer Messung die tatsächlichen Werte für  $\Delta$  und  $\Psi$  des Films ermittelt, so kann anhand der  $\Delta / \Psi$ -Trajektorie die entsprechende Schichtdicke zugeordnet werden.

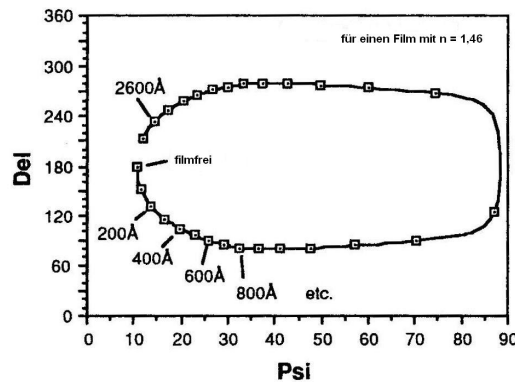


Abbildung 5-10:  $\Delta / \Psi$ -Trajektorie für ein Einfilm-System<sup>[72]</sup>

Die Schichtdickenbestimmungen von Zwei-Film-Strukturen erfolgt unter Kombination des Ein-Film Programms mit einem Drei-Film Programm, dessen mittlere Schichtdicke auf Null gesetzt wird. Die Schichtdicke des an das Substrat angrenzenden Films wird wie beschrieben bestimmt. Anschließend wird die  $\Delta / \Psi$ -Trajektorie bis zu der erhaltenen Filmdicke dargestellt. Der Endpunkt dieser Trajektorie dient nun als Nullpunkt der Schichtdicke des oberen Films, dessen zugehörige Trajektorie von diesem Punkt ausgehend berechnet wird (Abbildung 5-11).

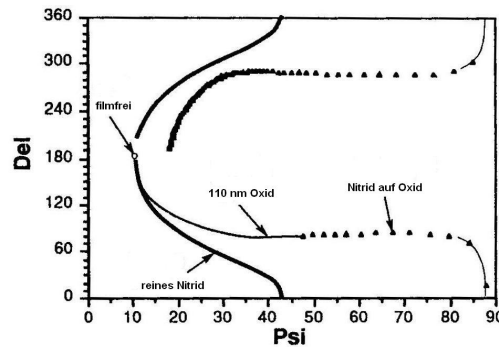


Abbildung 5-11:  $\Delta / \Psi$ -Trajektorie für ein Mehrschicht-System<sup>[72]</sup>

In Hinblick auf die dargestellten Zusammenhänge wird deutlich, wie wichtig eine korrekte Modellgenerierung des zu untersuchenden Systems ist. Nur so kann eine Anpassung korrekter Messwerte an ein falsches Modell und somit eine falsche Beschreibung des Systems vermieden werden.

### 5.2.3. XPS

Photoelektronenspektroskopie stellt eine der am häufigsten verwendeten Methoden in der Analytik von Oberflächen dar.<sup>[73]</sup> Sie liefert aufgrund ihrer hohen Empfindlichkeit qualitative und quantitative Informationen über alle chemischen Elemente mit Ausnahme von Wasserstoff und Helium, die sich in dem Oberflächenbereich einer Probe befinden. Fortgeschrittene Anwendungen der Methode liefern darüberhinaus eine große Anzahl detaillierter Informationen über die Chemie, Elektronenstruktur, Organisation und Morphologie von Oberflächen.<sup>[74]</sup>

Moderne Spektrometer ermöglichen neben der Untersuchung dünner Polymerfilme auch eine Analyse von vergleichsweise dicken Polymerproben sowie von Körnern, Fasern, Schäumen oder Pudern.<sup>[73]</sup> Typische Anwendungsbereiche der Methode stellen Oberflächenbehandlung, Metallurgie, Korrosion, Katalyse, adhäsive Anbindung, Elektronik und Umweltkontrolle dar.<sup>[75]</sup>

Die ersten photoelektronenspektroskopischen Experimente wurden von ROBINSON und RAWLINS im Jahre 1914 durchgeführt. Eine Entwicklung der eigentlichen Technik erfolgte in den frühen 1950er Jahren durch Prof. KAI SIEGBAHN und Mitarbeitern. Sie gaben der Methode den Namen Electron Spectroscopy for Chemical Analysis (ESCA), weil die Analyse des chemischen Zustandes einer Spezies ermöglicht wird. 1981 wurde SIEGBAHN für seine

Arbeit mit dem Nobelpreis in Physik ausgezeichnet. Da die zu analysierenden Photoelektronen durch die Absorption von Röntgenstrahlen emittiert werden, ist ein häufig verwendetes Akronym zu ESCA X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS).<sup>[74]</sup>

### 5.2.3.1. Grundlagen

Das von EINSTEIN formulierte Photochemische Quanten-Äquivalenzgesetz (Gleichung 35) stellt die zentrale Gleichung in der Photoelektronenspektroskopie dar. Es eröffnet die Möglichkeit, den von HERTZ beobachteten Photoelektrischen Effekt für analytische Methoden einzusetzen.

$$h\nu = E_{bind} + E_{kin} + \Phi \quad (35)$$

mit  $h$  : Planck Konstante

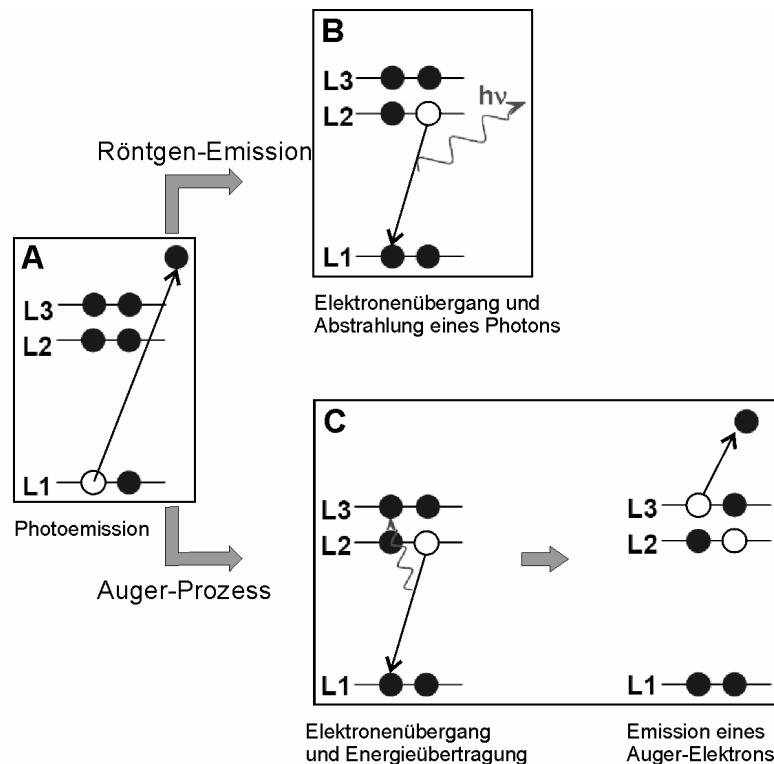
$\nu$  : Frequenz des Lichts

$\Phi$ : Arbeitsfunktion des Spektrophotometers

Nach EINSTEIN muss Licht als ein Fluss von Partikeln (Photonen) mit einer Quantenenergie von  $h\nu$  angesehen werden.<sup>[73]</sup> Trifft ein Photon auf ein Atom können prinzipiell drei Ereignisse eintreten: a) keine Interaktion, b) partieller Energieverlust des Photons durch Streuung an Elektronenorbitalen des Atoms, c) Elektronenemission durch Übertragung der Photonenenergie auf Elektronenorbitale. Für XPS entscheidend ist dabei die Interaktion des Photons mit einem atomaren Elektronenorbital unter vollständiger Übertragung der Energie des Photons auf das Elektron. Dieser Vorgang führt zu der Emission eines Photoelektrons (Abbildung 5-12A) aus dem Atom und stellt die Grundlage für XPS dar.<sup>[74]</sup>

Nach Verlassen der Oberfläche besitzt das emittierte Photoelektron die kinetische Energie  $E_{kin}$ . Durch Messung der kinetischen Energie des emittierten Photoelektrons kann dessen Bindungsenergie bestimmt werden. Diese wiederum steht in enger Beziehung zu dem Aufbau der Elektronenorbitale eines bestimmten chemischen Elements und eröffnet somit die Möglichkeit zu bestimmen, aus welchen Elementen die bestrahlte Probe aufgebaut ist.<sup>[73]</sup>

Gleichung 35 zeigt, dass die Summe von Bindungsenergie und kinetischer Energie nicht exakt der Röntgenstrahlungsenergie entspricht. Die Differenz liegt in der Arbeitsfunktion des Spektrometers begründet.<sup>[74]</sup>



**Abbildung 5-12:** schematische Darstellung der Emission eines Photoelektrons und von Sekundärprozessen

Das grundlegende Prinzip der XPS Technik ist die Induktion der Elektronenemission aus den inneren Schalen von Atomen mit Hilfe von Röntgenstrahlung.<sup>[75]</sup> Die emittierten Photoelektronen werden entsprechend ihrer Energie getrennt und gezählt. Es werden also Informationen über die Energie und die Anzahl der Photoelektronen gewonnen. Die Anzahl der emittierten Elektronen wird in Bezug gesetzt zu der Konzentration der emittierenden Atome in der Probe. Die Energie der Photoelektronen und die daraus nach Gleichung 35 berechnete Bindungsenergie ist abhängig von der atomaren und molekularen Umgebung, aus der die Photoelektronen stammen. Die Komplexität der Parameter Energie und Anzahl von Photoelektronen soll in den folgenden Kapiteln unter dem Gesichtspunkt der Spektrenauswertung näher betrachtet werden.<sup>[74]</sup>

### 5.2.3.2. Chemische Verschiebung

Anschaulich betrachtet stellt die Bindungsenergie emittierter Photoelektronen die Energiedifferenz zwischen dem elektronischen Endzustand und dem elektronischen Ausgangszustand dar. Findet während des Prozesses der Photoelektronenemission keine elektronische Reorganisation in dem betroffenen Atom statt, so entspricht die beobachtete Bindungsenergie der negativen Orbitalenergie des emittierten Photoelektrons. Durch die Reorganisation von Elektronen hingegen findet eine Energieabnahme statt, die als Relaxationsenergie bezeichnet

wird. Die beobachtete Bindungsenergie wird auf atomarer Ebene durch sogenannte Ausgangs- und Endzustandseffekte bestimmt.

Durch eine energetische Änderung des Ausgangszustands eines Atoms wird auch die Bindungsenergie der Elektronen in dem Atom verändert. Dies geschieht beispielsweise durch Ausbildung von Bindungen zu anderen Atomen und wird als chemische Verschiebung bezeichnet. In erster Näherung erfahren alle inneren Elektronen eines Elementes die gleiche chemische Verschiebung. In der Regel werden Ausgangszustandseffekte für die chemische Verschiebung verantwortlich gemacht, so dass mit Zunahme des formalen Oxidationszustandes eines Elementes die Bindungsenergie der emittierten Photoelektronen zunimmt. Diese Annahme geht davon aus, dass auch Endzustandseffekte wie die Relaxation ähnliche Ausmaße für unterschiedliche Oxidationszustände haben. Generell ist diese Annahme zulässig, bei der ausschließlich auf Ausgangszustandseffekten beruhenden Interpretation von chemischen Verschiebungen muss aber Vorsicht geboten sein. In der Praxis finden sich viele Beispiele, in denen Endzustandseffekte die Beziehung zwischen formalem Oxidationszustand und chemischer Verschiebung deutlich verändern.<sup>[74]</sup>

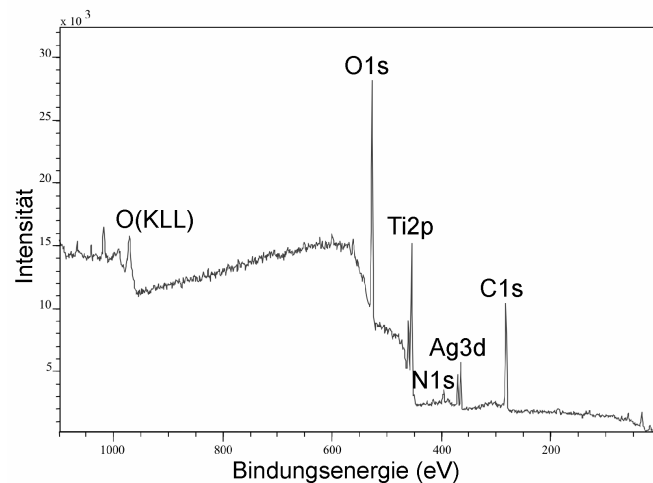
### 5.2.3.3. Übersichtsspektren

Initialer Schritt von XPS analytischen Untersuchungen stellt in der Regel die Aufnahme eines Übersichtsspektrums dar, bevor ausgewählte Bereiche detailliert betrachtet werden.<sup>[74]</sup>

Übersichtsspektren zeigen für alle mittels XPS bestimmbaren Elemente die Zählrate aufgetragen gegen die Bindungsenergie. Auch eine Auftragung gegen die kinetische Energie ist möglich, aber weniger verbreitet.

Die bei XPS eingesetzten Röntgenstrahlen sind in der Lage, in die untersuchte Probe bis zu einer Tiefe von etwa 10 nm einzudringen. Photoelektronen, die nahe der Probenoberfläche generiert werden, zeigen in der Regel nur eine geringe Wahrscheinlichkeit für Interaktionen mit anderen Elektronenorbitalen. Sie stellen Photoelektronen dar, die mit ihrer ursprünglichen kinetischen Energie detektiert werden. Diese kann direkt zur Bestimmung der Bindungsenergie nach Gleichung 35 genutzt werden. Die Zählung der Photoelektronen trägt somit unmittelbar zu den spektralen Informationen bei und die in der Probe enthaltenen Elemente können in einem Übersichtsspektrum durch die Position und damit die Bindungsenergien ihrer Peaks identifiziert werden. Abbildung 5-13 zeigt ein solches Übersichtsspektrum für eine im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Beschichtung von Titan, die auf in einem organischen Polymer eingelagerten Silberbromid-Partikeln beruht. Eine Benennung der Elementpeaks erfolgt entsprechend des Ursprungs des Photoelektrons. Photoelektronen aus dem 1s Orbital von Kohlenstoff finden sich beispielsweise im C 1s Peak.<sup>[73]</sup> Das Spektrum

zeigt die für die Beschichtung charakteristischen Elementpeaks C 1s, O 1s, N 1s, Ag 3d. Die zu erwartenden Elementpeaks P 2s, P 2p und Br 3d bleiben im Übersichtsspektrum im Hintergrundsignal verborgen. Weiterhin sind aber Signale des unterliegenden Titansubstrats (Ti 2p) und der von Titan ausgebildeten Oxidschicht (Ti 2p, O 1s) zu finden.



**Abbildung 5-13:** XPS Übersichtsspektrum einer silberhaltigen Kompositbeschichtung auf Titan (Kapitel 7.2.2.)

Betrachtet man das Hintergrundsignal, so steigt die Zählrate typischerweise vor den beschriebenen Photoemissionspeaks abrupt an und nimmt dann mit steigender Bindungsenergie langsam ab. Dieser Signalverlauf ist auf die inelastische Streuung von Photoelektronen in der Probe zurückzuführen.<sup>[74]</sup> Im Gegensatz zu Photoelektronen, die nahe der Probenoberfläche generiert werden, besitzen Photoelektronen, die in der Tiefe der Probe generiert werden, eine hohe Wahrscheinlichkeit für die Interaktion mit anderen Elektronen. Diese Interaktionen führen zu einem teilweisen oder kompletten Verlust von kinetischer Energie. Wenn sogenannte inelastisch gestreute Photoelektronen die Probenoberfläche verlassen, besitzen ihre kinetischen Energien folglich keine Signifikanz für ihren Ursprung.<sup>[73]</sup> Aus diesem Grund tritt nach jedem Photoemissionsereignis ein kumulatives Hintergrundsignal auf, das auf Photoelektronen beruht, die Energie durch inelastische Streuung verloren haben, aber noch über ausreichend Energie verfügen, um die Probenoberfläche zu verlassen. Da die Kollisionsergebnisse, welche die kinetische Energie der Elektronen reduzieren, keine diskreten Energien besitzen, ist für inelastisch gestreute Photoelektronen ein Kontinuum von Energien zu beobachten, das von dem Photoemissionspeak bis zu einer kinetischen Energie von Null führt.<sup>[74]</sup>

Die durch Photoemission am Atom entstandene Elektronenlücke kann durch die in Abbildung 5-12 dargestellten Prozesse kompensiert werden. Bei der Relaxation durch Röntgenemission (Abbildung 5-12 B) wird die Elektronenlücke in dem inneren Orbital des

Atoms durch ein Elektron eines höheren Energieniveaus aufgefüllt. Die Energiedifferenz zwischen den Orbitalen wird dabei in Form eines Photons abgestrahlt. Die Energie des Photons ist charakteristisch für das jeweilige Element und führt somit zu einer charakteristischen Röntgenstrahlung. Im XPS Übersichtsspektrum bemerkbar macht sich ein zweiter Relaxationsprozess. Neben den eigentlichen Elementpeaks und dem Hintergrundsignal basierend auf der Detektion inelastisch gestreuter Photoelektronen, treten in XPS-Spektren Signale sogenannter Auger-Elektronen auf (Signal O (KLL) in Abbildung 5-13). Der Auger-Effekt stellt einen Relaxationsprozess dar, der in der Folge des primären Photoionisationsschritts auftritt. Auch hier wird die durch Photoemission entstehende Elektronenlücke in einem inneren Orbital eines Atoms durch ein Elektron eines höheren Energieniveaus aufgefüllt. Die Energiedifferenz zwischen den Orbitalen führt dabei aber zu der Freisetzung eines zweiten Elektrons, dem sogenannten Auger-Elektron. Auger-Elektronen verlassen die Probenoberfläche ebenfalls mit der kinetischen Energie  $E_{\text{kin}}$  und werden detektiert (Abbildung 5-12 C).

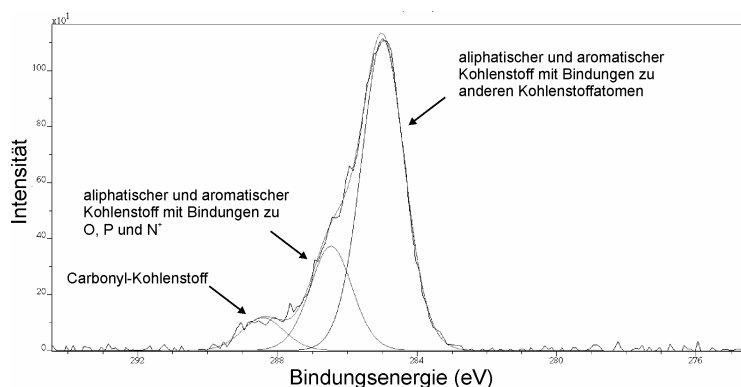
Die auf Auger-Elektronen beruhenden Peaks können relativ einfach von durch Photoelektronen hervorgerufenen Peaks unterschieden werden. Ein erstes Charakteristikum ist, dass sie in Form von Multipletts auftreten und zumeist eine Peakverbreiterung aufweisen. Wesentlich signifikanter ist aber die Tatsache, dass die Position von Auger-Peaks sich in Spektren, bei denen Zählrate gegen Bindungsenergie aufgetragen wird, durch die Nutzung einer anderen Röntgenstrahlquelle verschiebt. In Spektren, bei denen Zählrate gegen kinetische Energie dargestellt wird, verbleiben die Auger-Peaks bei Änderung der Röntgenstrahlquelle an ihrer ursprünglichen Position, wohingegen die durch Photoelektronen hervorgerufenen Peaks eine Verschiebung erfahren. Hintergrund dieser Beobachtung ist die Tatsache, dass die kinetische Energie von Auger-Elektronen von dem zugrunde liegenden Elektronenübergang und nicht von der Primärenergie der Strahlungsquelle abhängig ist.<sup>[73]</sup> Auf Auger-Elektronen beruhende Peaks können in Verbindung mit Photoemissionspeaks genutzt werden, um letztere einer bestimmten chemischen Spezies zuzuordnen.<sup>[74]</sup>

#### 5.2.3.4. Hochauflösende Spektren

Die Aufnahme von hochauflösenden Spektren ermöglicht die Gewinnung von Informationen, die über das Übersichtsspektrum hinausgehen. Die Betrachtung der hochaufgelösten Form eines einzelnen Peaks kann in Kombination mit weiteren Informationen darauf schließen lassen, dass der betreffende Peak sich aus einer Anzahl von Subpeaks zusammensetzt. Diese Subpeaks können dann durch entsprechendes Fitting des Signals den chemischen Verschiebungen bestimmter in der Probe enthaltenen Atomen oder Gruppen zugeordnet



werden. Abbildung 5-14 zeigt die hochaufgelöste Form des C 1s Kohlenstoffpeaks eines im Rahmen dieser Arbeit an Titan gebundenen organischen Copolymers von N-hexyl-4-vinylpyridiniumbromid und Dimethyl(2-methacryloyloxyethylphosphonat). Das Fitting des Peaks durch drei unterschiedliche Kohlenstoffspezies beruhend auf deren Bindungsarten erlaubt für das vorliegende Beispiel die Bestimmung des N-Alkylierungsgrades des Polymers.



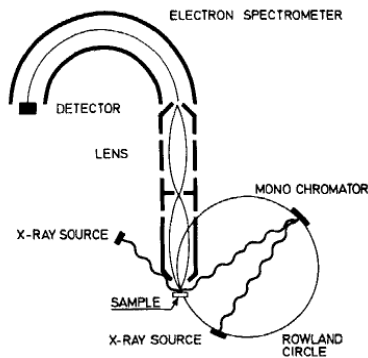
**Abbildung 5-14:** hochaufgelöstes XPS-Spektrum des C 1s Peaks von hexyl-VP-co-DMMEP (Kapitel 6.3.1.)

### 5.2.3.5. Quantifizierung

Zusätzlich zu einer qualitativen Bestimmung der Oberflächenzusammensetzung einer Probe erlaubt XPS ebenfalls eine Quantifizierung der gefundenen Spezies.<sup>[73]</sup> Generell steht die Fläche unter den Elementpeaks in Verbindung mit der Menge des jeweiligen Elements. Damit ist prinzipiell durch Bestimmung der Peakbereiche und Korrektur um die entsprechenden instrumentellen Parameter der Prozentsatz von jedem detektierten Element bestimmbar.<sup>[74]</sup> Der mathematische Zusammenhang zwischen der Anzahl von Atomen eines Elementes und der entsprechenden spektralen Intensität ist allerdings nicht trivial. Er besteht vereinfacht aus zwei Termen. Der erste Term beinhaltet Parameter, die aus der Interaktion zwischen Lichtquant und Elektronenorbitalen resultieren. Der zweite Teil setzt sich aus instrumentenspezifischen Parametern zusammen. Eine exakte Bestimmung aller Parameter ist zwar unmöglich, aber es ist auch nicht die absolute Anzahl an atomaren Spezies in der Probenoberfläche von Interesse, sondern vielmehr die relative Zusammensetzung bzw. die atomaren Verhältnisse. Unter diesem Gesichtspunkt können die beiden mathematischen Terme soweit vereinfacht werden, dass ausschließlich experimentell bestimmbare Parameter wie relativer Sensitivitätsfaktor (RSF) und Transmissionsfunktion verbleiben.<sup>[73]</sup> Auf diese Weise ist die Berechnung der Konzentration eines Elementes ebenso möglich wie die Bestimmung der atomaren Prozentsätze und Verhältnisse.<sup>[74]</sup>

### 5.2.3.6. Aufbau eines XPS

Der schematische Aufbau eines modernen XPS-Instruments ist in Abbildung 5-15 gezeigt. Die drei wesentlichen Bestandteile eines Photoelektronenspektrometers stellen das Vakuumsystem, die Röntgenstrahlquelle und der Analysator dar.<sup>[73]</sup>



**Abbildung 5-15:** schematische Darstellung eines Photoelektronenspektrometers<sup>[75]</sup>

Das Herzstück eines XPS-Instruments ist die Vakuumkammer, in welche die zu untersuchende Probe eingebracht wird. XPS-Untersuchungen müssen aus drei Gründen unter Ultrahochvakuum stattfinden.<sup>[74]</sup> Zum einen dient es einer Vermeidung von Interaktionen zwischen Photoelektronen und Gasatomen, was zu einem Verlust kinetischer Energie der Photoelektronen führen würde.<sup>[73]</sup> Zweitens können bestimmte Bauteile des Spektrometers wie z. B. die Röntgenstrahlquelle nur unter Vakuum optimal arbeiten. Drittens verhindert das Anlegen eines Vakuums, dass sich die Oberflächenzusammensetzung einer Probe während der XPS-Untersuchung verändert.<sup>[74]</sup>

Die bei XPS-Untersuchungen eingesetzte Röntgenstrahlung wird in der Regel durch Auftreffen eines hochenergetischen Elektronenstrahls auf ein Zielmaterial generiert. Im Zielmaterial bzw. der Anode werden Elektronenlücken in den inneren Schalen der Atome produziert. Diese wiederum führen im Rahmen von Relaxationsprozessen zur Emission von Röntgenfluoreszenzstrahlung und von Elektronen. Generell handelt es sich bei der in XPS-Experimenten eingesetzten Strahlung um die auf diese Weise generierte Röntgenfluoreszenzstrahlung. Anstelle der bei Röntgenemissionen entstehenden Bremsstrahlung wird die charakteristische Strahlung, welche durch das Emissionsspektrum des Anodenmaterials bestimmt wird, eingesetzt. Hintergrund ist eine deutlich höhere Intensität dieser charakteristischen Strahlung.<sup>[74]</sup> Üblicherweise wird für XPS die  $K\alpha_{1,2}$ -Strahlung von Magnesium oder Aluminium verwendet. Um die energetische Auflösung des Spektrometers

zu verbessern, kann ein kristalliner Monochromator eingesetzt werden, der einen engen Bereich der Wellenlängen ausschneidet.<sup>[73]</sup>

Das Analysatorsystem umfasst drei Bestandteile: die Sammellinse, den Energieanalysator und den Detektor. Über das Linsensystem wird der Einfallswinkel bestimmt, innerhalb dessen Photoelektronen in den Energieanalysator gelangen. Zudem werden häufig Linsensysteme eingesetzt, die durch Anlegen einer Spannung die kinetische Energie der Photoelektronen reduzieren können (s. u.).<sup>[74]</sup> Der Energieanalysator besteht aus einem hemisphärischen Bauelement. Er ermöglicht durch Anlegung eines elektrischen Feldes eine Auftrennung der Photoelektronen entsprechend ihrer kinetischen Energien während ihrer Bewegung auf der Kreisbahn. In Abhängigkeit der angelegten Feldspannung können nur Elektronen einer bestimmten kinetischen Energie den hemisphärischen Analysator vollständig durchlaufen. In der Praxis wird die Feldstärke meist konstant gehalten. Die kinetische Energie der Photoelektronen wird dann über ein variabel einstellbares elektrisches Potential bestimmt, das an eine Schlitzplatte oder eine Sammellinse angelegt wird, welche die Photoelektronen soweit verlangsamt, dass sie den hemisphärischen Analysator passieren können.<sup>[73]</sup> Elektronen, die den Energieanalysator passiert haben, werden schließlich am Detektor gezählt.<sup>[74]</sup>



## 6. Synthese

Die in Kapitel 4 vorgestellten Polymere und Komposite zur Herstellung antimikrobieller Oberflächen beruhen mit Ausnahme der Homopolymere von VBP und DMMEP auf gemeinsamen Prä(co)polymeren von 4-VP mit VBP bzw. DMMEP. Erst im Anschluß an die Polymersynthese findet eine vollständige oder teilweise N-Alkylierung statt. Der Einsatz von hexyl-VP als Comonomer ist aufgrund spontan erfolgender Polymerisation bei der Reaktion von 4-VP mit Alkylhalogeniden nicht möglich.<sup>[76, 77]</sup> Auch bietet die Synthese von 4-VP-haltigen Präpolymeren den Vorteil, dass in anschließender Reaktion die N-Alkylierungsgrade zum Beispiel für die Synthese silberhaltiger Kompositmaterialien gezielt eingestellt werden können. Zudem können die Molekulargewichte der Präpolymere mittels Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) bestimmt werden, was bei hexyl-VP-haltigen Polyelektrolyten aufgrund von Wechselwirkungen mit dem Säulenmaterial nicht möglich ist. Neben den Homopolymeren von VBP, DMMEP und 4-VP sollen anhand der in vorheriger Arbeit bestimmten *r*-Parameter ausgewählte Copolymere von 4-VP-*co*-VBP und 4-VP-*co*-DMMEP hergestellt werden.<sup>[62]</sup> Alle Polymerisationen werden als freie radikalische Polymerisationen durchgeführt.

Anschließend werden neben der Herstellung von PolyVBP, PolyDMMEP, PVP und Copolymeren von 4-VP-*co*-VBP und 4-VP-*co*-DMMEP die N-Alkylierungsreaktion sowie die Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in Kompositsysteme vorgestellt.

### 6.1. Monomersynthese

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit synthetisierten Homo- und Copolymere basieren auf den in Abbildung 6-1 dargestellten Monomeren 4-Vinylpyridin **4-VP**, Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat **DMMEP** und 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester **VBP**. Mit Ausnahme von 4-Vinylpyridin sind diese Monomere nicht kommerziell erhältlich und mussten entsprechend synthetisiert und charakterisiert werden.

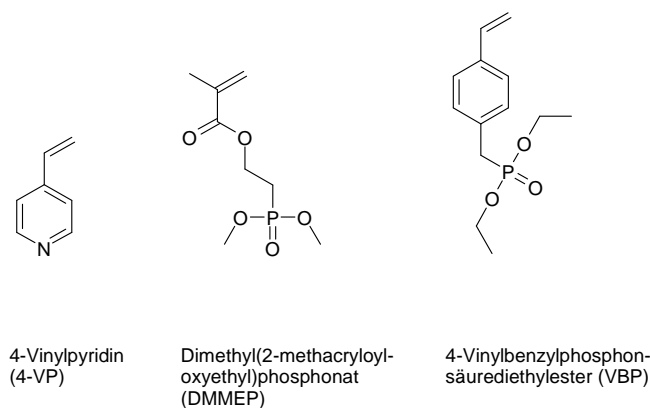
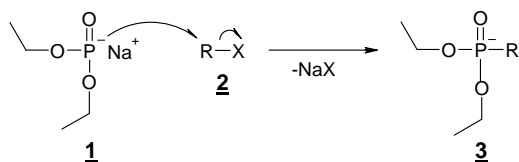


Abbildung 6-1: Übersicht der verwendeten Monomere

### 6.1.1. Darstellung von 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester

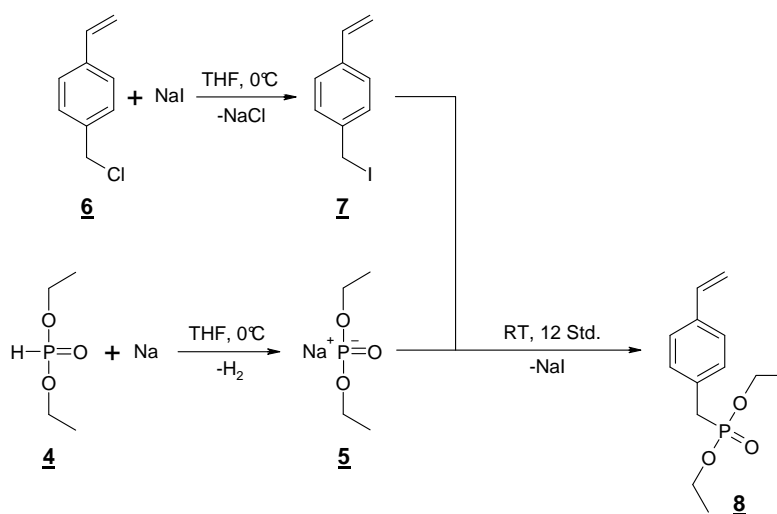
Zentraler Reaktionsschritt bei der Synthese von VBP ist die Knüpfung einer Kohlenstoff-Phosphor Bindung. Da dies theoretisch sowohl via Michaelis-Arbuzov Reaktion als auch via Michaelis-Becker Reaktion erreicht werden kann, bieten sich zur Darstellung von VBP prinzipiell zwei alternative Syntheserouten an. Diese umfassen zum einen eine Darstellung durch die Umsetzung eines entsprechenden Alkylhalogenids mit einem Trialkylphosphit in einer Michaelis-Arbuzov Reaktion,<sup>[78]</sup> zum anderen die Umsetzung des Natriumsalzes von Diethylphosphit mit einem entsprechenden Alkylhalogenid in einer Michaelis-Becker Reaktion.<sup>[79]</sup> Wie in vorausgegangener Arbeit<sup>[62]</sup> gezeigt werden konnte, liefert die Michaelis-Becker Reaktion für die Synthese von VBP deutlich höhere Ausbeuten und wird deswegen ausschließlich angewendet. Die im Falle der Michaelis-Becker erzielten höheren Ausbeuten liegen darin begründet, dass es bei der Synthese von VBP möglich ist, die Reaktion bei 0°C durchzuführen und das Produkt mittels Säulenchromatographie aufzureinigen. Damit umgeht die Michaelis-Becker Reaktion hohe Temperaturen sowohl während der Reaktionsdurchführung als auch während der Aufarbeitung und ist somit im Gegensatz zur Michaelis-Arbuzov Reaktion gut auf polymerisierbare Verbindungen anwendbar.

Die Michaelis-Becker Reaktion beinhaltet die Darstellung von Phosphonaten aus dem Natriumsalz eines Diethylphosphits **1** und einem Alkylhalogenid **2**. Sie läuft in zwei Schritten ab, wobei der erste Schritt die Darstellung des Natriumsalzes des entsprechenden Diethylphosphits umfasst. Im zweiten Schritt wird dieses Natriumsalz **1** mit einem Alkylhalogenid **2** in einer nucleophilen Substitutionsreaktion umgesetzt (Abbildung 6-2).



**Abbildung 6-2:** zentraler Reaktionsschritt der Michaelis-Becker Reaktion

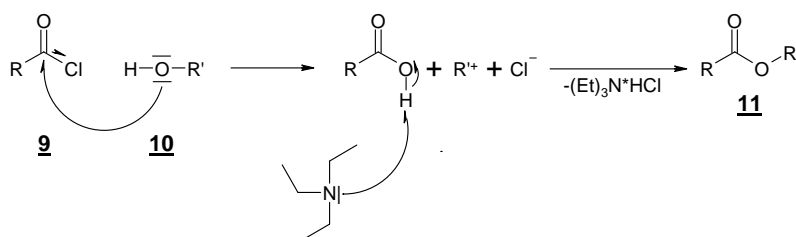
Für die Synthese von VBP über eine Michaelis-Becker Reaktion wurde zunächst Diethylphosphit **4** durch Reaktion mit Natriumhydrid in das entsprechende Natriumsalz **5** überführt. Parallel dazu wurde kommerziell erhältliches Vinylbenzylchlorid **6** zur Erhöhung der Reaktivität durch Umsatz mit Natriumiodid in Vinylbenzyljodid **7** überführt. Das Natriumsalz von Diethylphosphit **5** und Vinylbenzyljodid **7** wurden dann in einer nucleophilen Reaktion zu VBP **8** umgesetzt<sup>[79]</sup> (Abbildung 6-3). Nach Aufreinigung des Produkts durch Säulenchromatographie mit Kieselgel als stationärer und Ethylacetat als mobiler Phase wurde eine Ausbeute von 46,8 wt.-% erzielt, wobei ein Restgehalt Ethylacetat von 5,75 mol-% nicht entfernt werden konnte.



**Abbildung 6-3:** Darstellung von VBP **8** durch eine Michaelis-Becker Reaktion

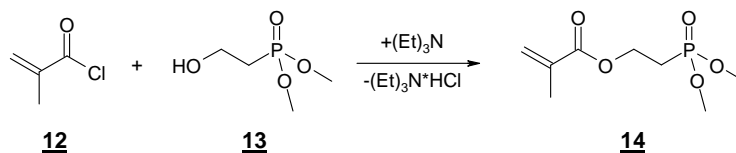
### 6.1.2. Darstellung von Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat

Die Darstellung von DMMEP erfolgt durch eine Schotten-Baumann Reaktion. Diese Acylierungsreaktion beinhaltet die Umsetzung eines Carbonsäurechlorids **9** mit einem primären Alkohol **10** zum entsprechenden Ester **11**. Eingeleitet wird die Reaktion durch einen nucleophilen Angriff des primären Alkohols **10** am Carbonsäurechlorid **9** (Abbildung 6-4). Der Zusatz einer Base dient zum Abfangen des während der Reaktion gebildeten Chlorwasserstoffs.



**Abbildung 6-4:** Reaktionsmechanismus der Schotten-Baumann Reaktion

Die Darstellung von DMMEP **14** durch eine Schotten-Baumann Reaktion wurde durch Zugabe von Methacrylsäurechlorid **12** zu einer auf 0°C gekühlten Lösung von Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat **13**, Triethylamin und 2,6-Di-tert-butylparacresol in Dichlormethan (Abbildung 6-5) durchgeführt.<sup>[80]</sup>



**Abbildung 6-5:** Darstellung von DMMEP **14** durch eine Schotten-Baumann Reaktion

Die Aufarbeitung erfolgte durch Abtrennung des während der Reaktion gebildeten Ammoniumsalzes nach Ausfällung durch Zugabe von Diethylether und anschließender Destillation, bei der 2,6-Di-tert-butylparacresol zur Vermeidung einer Polymerisationsreaktion diente. Es wurde eine Ausbeute von 44,3 wt.-% erzielt.

## 6.2. Polymersynthese

Das Homopolymer von hexyl-VP stellt im Rahmen dieser Arbeit das einzige nicht phosphonathaltige Polymer dar. Die Synthese von hexyl-PVP muss über PVP als Präpolymer erfolgen. Dies hat den Hintergrund, dass die Umsetzung von 4-VP mit Alkylhalogeniden nicht zu den entsprechenden monomeren Vinylpyridiniumsalzen führt. Anstelle des gewünschten Produkts beobachteten KABANOV et al. die Ausbildung hochmolekularer quartärer Polymere.<sup>[76, 77]</sup> Dieser spontanen Polymerisation liegt nach KABANOV et al. ein anionischer Mechanismus zugrunde, da sich die Reaktion nicht durch den Zusatz von Inhibitoren für freie radikalische Polymerisationen verhindern lässt. Entsprechend basieren alle in der Literatur beschriebene Synthesen von hexyl-PVP auf der Synthese von PVP und anschließender N-Alkylierung. Die Polymerisation von 4-VP stellt eine in der Literatur häufig



beschriebene und gut untersuchte Reaktion dar. Es kommen diverse Polymerisationsverfahren zum Einsatz. Als synthetisch einfachste Variante führten FUOSS et al. die Polymerisation von 4-VP in Form freier radikalischer Reaktion durch, wobei sie Molekulargewichte zwischen 50 000 und 80 000 g/mol erzielten.<sup>[81]</sup> Es werden aber auch kontrollierte radikalische Polymerisationen beschrieben. BOHRISCH et al. berichten über die erfolgreiche Darstellung von PVP, die im Rahmen einer „stable free radical polymerization“ (SFRP) kontrollierten Charakter zeigt.<sup>[82]</sup> Auch über die Herstellung von Poly(Styrol-**b**-4-VP) Blockcopolymeren durch „reversible addition-fragmentation chain transfer“ Reaktion (RAFT) wird berichtet.<sup>[83]</sup> Trotz der stark koordinierenden Eigenschaften von 4-VP und der dadurch bedingten Ausbildung von Metallkomplexen, gelang XIA et al. durch Auswahl eines komplexen Systems die Synthese von PVP in einer kontrollierten ATRP.<sup>[84]</sup> Allerdings konnte das als Katalysator zugesetzte Kupfer nicht vollständig aus dem Polymer entfernt werden. Dies ist für biomedizinische Anwendungen als äußerst problematisch anzusehen, da Kupfer zelltoxische Eigenschaften besitzt. Neben der Polymerisation von 4-VP durch radikalische Reaktion sind auch lebende Polymerisationsverfahren möglich. So gelang CREUTZ et al. sowohl die Herstellung von PVP Homopolymeren als auch von Blockcopolymeren mit tertiär-Butylmethacrylat in einer lebend anionischen Reaktion.<sup>[85]</sup> Neben der Polymerisation von 4-VP als erste Stufe der Synthese von hexyl-PVP wird auch der Einsatz kommerziell erhältlichen PVPs berichtet.<sup>[45]</sup> Dies bietet innerhalb der kommerziell erhältlichen Polymere den Vorteil eines definierten Molekulargewichts.

Die zitierten Beispiele zeigen insgesamt, dass die Homopolymerisation von 4-VP entsprechend der konkreten Fragestellung über ganz unterschiedliche Wege erreicht werden kann. Für die zahnmedizinische Anwendung wird ein geringer synthetischer Aufwand angestrebt. Dies ist durch die Herstellung von PVP über freie radikalische Polymerisation gegeben. Zudem ist das von FUOSS et al. beschriebene Produkt für die weitere Umsetzung gut geeignet. Aus diesen Gründen wird die Polymerisation von 4-VP im Rahmen der vorliegenden Arbeit als freie radikalische Reaktion durchgeführt.

Die Synthese phosphonathaltiger Homopolymere umfasst in der vorliegenden Arbeit die Polymerisation von VBP und DMMEP. Generell kann bei der (Co)polymerisation von phosphonathaltigen Monomeren zwischen allylischen, vinylischen, auf Styrol oder auf Methacrylaten beruhenden Monomereinheiten unterschieden werden. DAVID<sup>[86]</sup> und BOUTEVIN<sup>[87]</sup> konnten zeigen, dass allylische und vinylische Monomere bei radikalischen (Co)polymerisationen keine gute Reaktivität besitzen. Es wurden lediglich Oligomere

geringen Molekulargewichts erhalten. Die radikalische (Co)polymerisation von auf Styrol basierenden Monomeren hingegen führte zu Polymeren mit hohen Molekulargewichten.<sup>[88]</sup> In der Literatur am häufigsten beschrieben sind aber radikalische (Co)polymerisationen von auf Methacrylat basierenden Monomeren, da diese hohe Reaktivität zeigen. Die konkreten Polymere von DMMEP und VBP sind in der Literatur bekannt, ihre Herstellung ist aber weitaus weniger gut untersucht als die Herstellung von PVP. Sowohl ADDEN et al. als auch MOSZNER et al. beschreiben die Herstellung von PolyDMMEP durch freie radikalische Polymerisation.<sup>[89, 90]</sup> DEROUET et al. berichten über die Synthese und Anbindung von PolyDMMEP an Kautschuk im Rahmen einer photoinitierten Polymerisation durch „Grafting from“.<sup>[91]</sup> Neben der Herstellung von PolyDMMEP beschreiben ADDEN et al. ebenfalls die Herstellung von PolyVBP durch freie radikalische Polymerisation. Dies geschieht sowohl im Rahmen der Synthese von Polymeren für eine direkte Anbindung an Titan<sup>[20]</sup> als auch von Polymeren für eine Anbindung mittels photochemischen „Grafting onto“.<sup>[17]</sup> Für die Synthese von PolyVBP lassen sich aber auch Beispiele kontrollierter Polymerisationstechniken finden. BOUTEVIN et al. berichten von der Synthese von PolyVBP mittels SFRP. Dabei klassifizierten sie den Reaktionsverlauf als kontrollierte freie radikalische Polymerisation mit lebendem Charakter.<sup>[88]</sup> BRITZE et al. setzten kurze endfunktionalisierte Homopolymerketten von VBP als Makroinitiatoren für die Synthese von Diblock-Copolymeren mit Styrol bzw. N,N-Dimethylacrylamid ein. Als Polymerisationstechnik wählten sie die „nitroxide-mediated radical polymerization“ (NMRP) unter Verwendung eines acyclischen N-Alkoxyamins, das eine Phosphonatgruppe trägt. Eine Kontrolle der Homopolymerisation von VBP war aber nicht gegeben. Es wurden geringe Polymerisationsraten, eine nicht-ideale Abhängigkeit zwischen Umsatz und Molekulargewicht und eine breite Molekulargewichtsverteilung beobachtet.<sup>[92]</sup>

Aufgrund der Anforderung eines geringen synthetischen Aufwands in Hinblick auf eine zahnmedizinische Anwendung und aufgrund der dargestellten Problematiken im Rahmen einer kontrollierten Reaktionsführung werden die Homopolymerisationen von VBP und DMMEP in der vorliegenden Arbeit als freie radikalische Reaktion durchgeführt.

Die durchgeführten Copolymerisationen umfassen die Polymerisation von 4-VP mit DMMEP bzw. mit VBP. In der Literatur wird im Rahmen der Synthese antimikrobieller Polymere mit verbesserter Biokompatibilität häufig die Polymerisation von 4-VP mit Comonomeren, die biokompatible Materialien bilden, beschrieben. So führten ALLISON et al. Copolymerisationen von 4-VP mit Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) und Poly(ethylenglycolmethacrylat)

(PEGMA) 300, 475 und 1100 durch.<sup>[93]</sup> Die Copolymerisationen wurden als freie radikalische Reaktionen durchgeführt und die Monomermischungen mit dem Ziel der Bestimmung der Copolymerisationsparameter (r-Parameter) über einen weiten Bereich variiert. Es resultierten r-Parameter von  $r(4\text{-VP}) = 0,83$  und  $r(\text{HEMA}) = 0,65$  sowie Werte im Bereich von  $r(4\text{-VP}) = 0,87\text{--}1,13$  und  $r(\text{PEGMA}) = 0,63\text{--}0,80$ . Dabei nahmen bei der Copolymerisation von 4-VP mit PEGMA die  $r(4\text{-VP})$ -Werte mit dem Molekulargewicht des eingesetzten PEGMAs zu. Die Molekulargewichte der PEGMA 300 haltigen Copolymere lagen zwischen 35 000 und 10 000 g/mol, wobei das Molekulargewicht mit steigendem 4-VP-Gehalt abnahm. Die PEGMA 475 bzw. 1100 haltigen Copolymere zeigten Molekulargewichte von 20 000 respektive 15 000 g/mol.

Im Gegensatz zu der Copolymerisation von 4-VP mit biokompatiblen Comonomeren ist der Einsatz von phosphonathaltigen Monomeren eher die Ausnahme. ADDEN et al. berichten über die Synthese von bifunktionellen Copolymeren von VBP und N-Acryloxysuccinimid (NASI), die erfolgreich an Titan gebunden und zur Immobilisierung von Proteinen eingesetzt werden können.<sup>[20]</sup> Die Polymersynthese erfolgte über freie radikalische Polymerisation. Sie beobachteten dabei einen alternierenden Einbau der Comonomere in die Polymerkette und erhielten r-Parameter von  $r(\text{VBP}) = 0,16$  und  $r(\text{NASI}) = 0,13$ . Da die Q- und e-Werte von NASI nicht bekannt sind, kann keine Abschätzung der Copolymerisationsparameter für die Reaktion von 4-VP mit VBP anhand der von ADDEN et al. ermittelten Parameter stattfinden. Ein mit den Q- und e-Werten von 4-VP vergleichbares Comonomer stellt Styrol dar. Beide Monomere verfügen über einen identischen Q-Wert von 1 und negative e-Werte von -0,280 bzw. -0,800.<sup>[94]</sup> Eine konventionelle freie radikalische Copolymerisation von Styrol mit VBP lässt sich in der Literatur jedoch nicht finden, sondern lediglich der Weg über ein Präpolymer. Konkret stellten BELFIELD et al. ein Copolymer von VBP und Styrol her, indem sie zunächst Styrol und Vinylbenzylchlorid in einer freien radikalischen Reaktion copolymerisierten und anschließend Vinylbenzylchlorid durch eine Michaelis-Arbuzov Reaktion in das entsprechende Phosphonat umsetzten.<sup>[95]</sup> Als weitere Arbeitsgruppe, die sich mit der Polymerisation von VBP und Styrol beschäftigte, stellten BOUTEVIN et al. Blockcopolymere von VBP und Styrol durch TEMPO vermittelte freie radikalische Polymerisation mit lebendem Charakter her.<sup>[96]</sup> Beide Reaktionen lassen eine generelle Copolymerisierbarkeit von Styrol bzw. 4-VP und VBP vermuten, geben aber keine weiteren Informationen bezüglich der Reaktivitätsverhältnisse der Comonomere. Das mit der Copolymerisation von 4-VP und VBP am besten vergleichbare, in der Literatur zu findende System beschreiben JIANG et al. Ihnen gelang im Rahmen der Synthese von Polymeren, die über Protonen-Leitfähigkeit

verfügen, mittels ATRP die kontrollierte Copolymerisation von 4-VP mit Diisopropyl-p-vinylbenzylphosphonat.<sup>[97]</sup> Die ermittelten  $r$ -Parameter betragen  $r(\text{DIPVBP}) = 0,69$  und  $r(4\text{-VP}) = 1,17$ . Legt man Berichte zugrunde, dass Monomerenpaare vergleichbare Reaktivitätsverhältnisse bei ATRP und konventioneller radikalischer Polymerisation besitzen,<sup>[98, 99]</sup> da bei beiden Methoden das Kettenwachstum durch freie radikalische Mechanismen stattfindet, so sind die beschriebenen  $r$ -Parameter ein erster Anhaltspunkt für den Verlauf einer konventionellen radikalischen Copolymerisation von 4-VP mit VBP. Allerdings gibt es auch Arbeitsgruppen, die über eine Diskrepanz der Reaktivitätsverhältnisse zwischen ATRP und konventioneller radikalischer Polymerisation berichten.<sup>[100]</sup> Zudem muss bedacht werden, dass die Monomerverteilung entlang der Polymerkette bei einer Polymerisation mittels ATRP eine andere ist als bei einer Polymerisation mittels konventioneller radikalischer Reaktion. Die ATRP führt zu einem kontinuierlichen Gradienten entlang der Polymerkette, wohingegen konventionelle freie radikalische Polymerisation zunächst zu Ketten mit hohem Anteil des zuerst verbrauchten Monomers führt und später zu Ketten mit hohem Anteil des entsprechenden Comonomers.

Auch die Copolymerisation von DMMEP mit 4-VP stellt eine in der Literatur bisher nicht beschriebene Reaktion dar. EL ASRI et al. zeigten aber durch Homo- und Copolymerisation von DMMEP und Methylmethacrylat (MMA), dass beide Comonomere über eine vergleichbare Reaktivität verfügen.<sup>[101]</sup> Überträgt man diese Erkenntnis auf die Arbeit von SAMBHY et al., kann eine generelle Copolymerisierbarkeit von 4-VP mit DMMEP angenommen werden. So berichten SAMBHY et al. im Rahmen einer Studie von antimikrobieller und hämolytischer Aktivität von Polymeren die Copolymerisation von 4-VP mit MMA durch freie radikalische Polymerisation.<sup>[102]</sup> Sie stellten Polymere her, deren Gehalt an 4-VP und MMA jeweils 50 mol-% betrug. Dies erreichten sie durch eine entsprechende Monomerenmischung und vollständige Polymerisation. Eine Untersuchung von Polymeren unterschiedlicher Zusammensetzung und eine eingehendere Charakterisierung der Copolymerisation fand allerdings nicht statt. Neben Copolymeren von 4-VP und MMA wurden auch Copolymere von 4-VP und diversen weiteren Methacrylaten mit Alkylkettenlängen von 2, 3, 4, 6, 8 und 10 Kohlenstoffatomen hergestellt. Die Molekulargewichte der hergestellten Copolymere lagen zwischen 27 000 und 33 000 g/mol.

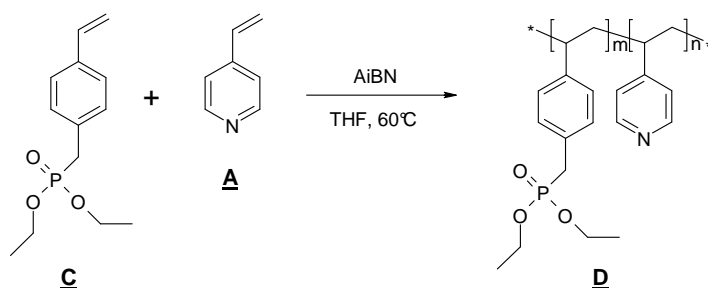
Die angeführten Überlegungen und Beispiele sprechen für eine generelle Polymerisierbarkeit der im Rahmen dieser Arbeit für die Homo- und Copolymersynthese eingesetzten Monomere durch freie radikalische Polymerisation. Basierend auf den Reaktivitäten der herangezogenen

Referenzsysteme ist außerdem davon auszugehen, dass die (Prä)copolymere über einen weiten Zusammensetzungsbereich hergestellt und variiert werden können.

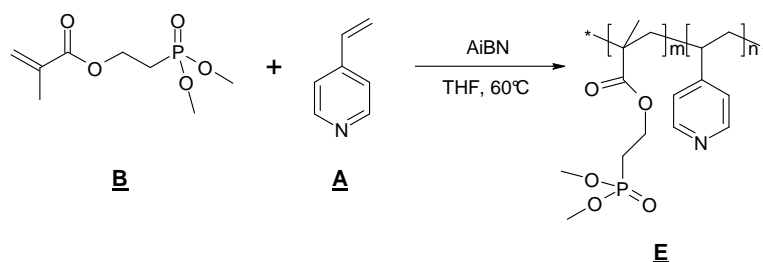
### 6.2.1. Darstellung der Präpolymere

Auf Basis der in Kapitel 6.2. diskutierten Zusammenhänge erfolgt die Synthese der Präpolymere durch frei radikalische (Co)polymerisation. Der Verlauf der Copolymerisationsreaktionen ist schematisch in Abbildung 6-6 dargestellt.

Copolymerisation von Vinylpyridin mit 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester:



Copolymerisation von Vinylpyridin mit Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat:



**Abbildung 6-6:** Übersicht der durchgeführten Copolymerisationsreaktionen

Durch den Einsatz unterschiedlicher Monomerenmischungen und Abbruch der Reaktionen bei geringen Umsätzen ( $\leq 40$  wt.-%) konnten über die Methode nach KELEN und TUDÖS die entsprechenden Copolymerisationsparameter und daraus wiederum die Q- und e-Werte ermittelt werden (Tabelle 6-1).<sup>[62]</sup>

**Tabelle 6-1:** Parameter für die Umsetzung von 4-VP mit VBP bzw. DMMEP

Monomersystem	Copolymerisationsparameter		Q- und e-Werte	
	r (4-VP)	r (Phosphonat)	Q (Phosphonat)	e (Phosphonat)
4-VP / DMMEP	0,868	0,795	0,95	0,34
4-VP / VBP	0,424	0,490	1,35	1,04

4-VP ( $Q = 1,00 / e = -0,28$ ) und die für die Copolymerisationen eingesetzten Comonomere weisen ähnliche  $Q$ -Werte und damit ähnliche Reaktivitäten auf. Der negative  $e$ -Wert von 4-VP steht für eine elektronenreiche, d.h. negativ polarisierte Doppelbindung der Verbindung. Geeignete Copolymerisationspartner sollten folglich elektronenziehende Substituenten aufweisen, die zu einer elektronenarmen Doppelbindung führen. Die positiven  $e$ -Werte der eingesetzten phosphonathaltigen Comonomere stehen für Verbindungen dieser Art. Anhand der  $r$ -Parameter ist die Copolymerisation von 4-VP mit DMMEP als nahezu ideal statistisch anzusehen. Die ermittelten Werte für  $r_2$  und  $r_1$  sind für die Copolymerisation von 4-VP mit VBP kleiner eins. Folglich copolymerisieren die aktiven Kettenenden schneller mit dem jeweils anderen als mit dem gleichartigen Monomer. Das heißt, die Copolymere weisen die Tendenz zum alternierenden Einbau der Monomere in die Polymerkette auf. Beide Copolymerisationen stellen Systeme dar, bei denen beliebige Polymerzusammensetzungen gezielt über die eingesetzte Monomerenmischung eingestellt und die Reaktionen bis zu hohen Umsätzen durchgeführt werden können.

Für die vorliegende Arbeit wird im Rahmen der Synthese *potentiell kontaktbakterizider Copolymere* von 4-VP mit VBP bzw. DMMEP eine Abstufung der Zusammensetzungen in Zehnerprozenten angestrebt, um ein umfassendes Screening zur Untersuchung von Korrelationen zwischen Polymerzusammensetzung und biologischer Aktivität zu ermöglichen. Dabei soll der Gehalt an 4-VP von 20 auf 80 mol-% steigen. Anhand der in Tabelle 6-1 aufgeführten Copolymerisationsparameter werden die genannten Copolymerzusammensetzungen über die Monomerenmischungen eingestellt.

Die Synthese von Copolymermatrices von 4-VP und VBP zur in-situ Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln soll zu *Kompositmaterialien* führen, die eine Kombination der kontaktbakteriziden Eigenschaften von hexyl-VP und der antimikrobiellen Eigenschaften von Silberionen darstellen. Hierbei sind zwei gegenläufige Effekte zu bedenken. Auf der einen Seite konnte für die in Abbildung 6-6 dargestellten Copolymersysteme gezeigt werden, dass eine Erhöhung des Phosphonatanteils im Copolymer tendenziell in erhöhten Schichtdicken resultiert.<sup>[62]</sup> Für die Synthese von Polymermatrices aus 4-VP und VBP zur Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln bedeutet dies, dass ein hoher VBP-Gehalt zu erhöhten Schichtdicken führen sollte und damit die Möglichkeit bietet, mehr Kompositmaterial und damit auch mehr antimikrobiell wirksames Silber auf die Oberfläche aufzubringen. Auf der anderen Seite würde ein damit verbundener geringer Gehalt an 4-VP bzw. hexyl-VP zu einer Schwächung

der kontaktbakteriziden Eigenschaften des Copolymers führen. Darüberhinaus besitzt das im Copolymer enthaltene 4-VP nicht nur die Eigenschaft, nach N-Alkylierung in eine kontaktbakterizide Gruppe überführt werden zu können, sondern ist auch für die Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln essentiell. So werden diese nach in-situ Bildung nicht nur durch sterische Effekte des Polymers, sondern wesentlich durch elektronische Effekte des freien Elektronenpaares am Stickstoff in 4-VP stabilisiert und im Polymer gehalten.<sup>[45]</sup> Zusammenfassend bedeutet dies, dass ein hoher VBP-Gehalt im Copolymer den Vorteil bietet, erhöhte Schichtdicken auf die Oberfläche aufbringen zu können, gleichzeitig aber auch den Nachteil, weniger Silberbromid im Copolymer selbst einzulagern zu können. Für die vorliegende Arbeit wird die Rolle von 4-VP in Copolymeren zur Einlagerung von Silberbromid als bedeutender eingestuft und die Synthese von Polymeren mit hohen 4-VP Gehalten von 90, 80 und 70 mol-% angestrebt.

Die Synthese *thermisch vernetzbarer Polymere* hat den Hintergrund, die Schichtdicke der resultierenden Polymerfilme und auch der entsprechenden Composite nicht nur innerhalb eines engen Bereichs über den Phosphonatanteil im Copolymer beeinflussen zu können. Stattdessen sollen diese Systeme die Möglichkeit bieten, die Schichtdicken über einen deutlich größeren Bereich variieren zu können und zwar durch den Anteil vernetzbarer Gruppen, die im Rahmen der N-Alkylierung von 4-VP eingeführt werden. Zur Untersuchung dieses Ansatzes soll ein Präpolymer mit gleichen Anteilen an 4-VP und DMMEP hergestellt werden.

Da sowohl die Copolymerisation von 4-VP mit DMMEP als auch mit VBP ein System darstellt, bei dem die Reaktion bis zu hohen Umsätzen durchgeführt werden kann, werden die Reaktionen erst bei Umsätzen von bis zu 80 wt.-% abgebrochen. Die Zusammensetzung der erhaltenen Copolymere wird mittels Elementaranalyse über das Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnis ermittelt sowie mittels <sup>1</sup>H-NMR über die Intensitätsverhältnisse der durch die entsprechenden Comonomere hervorgerufenen Signale. Als charakteristische Peaks zur Berechnung des Anteils von 4-VP in den Copolymeren mit DMMEP werden die beiden Signale des aromatischen Rings bei 8,4 ppm und 7,0 ppm herangezogen. Als charakteristische Peaks zur Berechnung des Anteils an DMMEP bieten sich das Signal der Estergruppe benachbarten CH<sub>2</sub>-Gruppe bei 4,2 ppm an sowie das Signal der Methylgruppen des Phosphonsäureesters bei 3,8 ppm.<sup>[62]</sup> Für die Copolymere von 4-VP mit VBP wird als Peak für die Berechnung des 4-VP-Gehalts das Signal der dem Stickstoff benachbarten

aromatischen CH-Gruppen im Pyridin bei 8,3 ppm verwendet. Der Anteil an VBP wird über das Signal der CH<sub>2</sub>-Gruppen im Phosphonsäureester bei 4,0 ppm und das Signal der dem Phosphor benachbarten CH<sub>2</sub>-Gruppe bei 3,1 ppm bestimmt.<sup>[103]</sup>

#### 6.2.1.1. Ergebnisse der freien radikalischen (Co)polymerisationen

Mittels freier radikalischer (Co)polymerisation konnten die Homopolymere PolyVBP, PolyDMMEP, PVP und gezielte Copolymere von (4-VP)-*co*-(VBP) und (4-VP)-*co*-(DMMEP) erfolgreich hergestellt werden.

Die Homopolymerisation von 4-VP wurde unter Verwendung von AIBN als Initiator in getrocknetem THF unter Zugabe von wenig Methanol durchgeführt. Die Zugabe von Methanol diente der Vermeidung eines Ausfällens von PVP während der Polymerisation, da PVP oberhalb eines bestimmten Polymerisationsgrades unlöslich in THF wird.<sup>[85]</sup> Die Homopolymerisation von VBP und DMMEP unter vergleichbaren Bedingungen lieferte Polymere, die aufgrund ihrer geringen Viskosität nach dem Fällungsschritt nicht als Feststoff isoliert werden konnten. Auch BRITZE et al. beschreiben die geringe Glasübergangstemperatur von PolyVBP als problematisch bei der Isolierung des Polymers und gingen zu einem einfachen Dekantieren der überstehenden Lösung nach dem Fällungsschritt über.<sup>[92]</sup> In der vorliegenden Arbeit wurde ein anderer Weg beschritten und zu Polymerisationen in wässrig-methanolischem Medium (3:2 Volumenanteile für PolyVBP und 2:3 Volumenanteile für PolyDMMEP) übergegangen, wobei der wasserlösliche Initiator V-50 eingesetzt wurde. Durch anschließende Dialyse und Gefriertrocknung konnten die Polymere in Ausbeuten bis zu 50 wt.-% gewonnen werden.

Die anhand der bekannten *r*-Parameter jeweils über das Monomergemisch eingestellten sowie die tatsächlich erhaltenen Copolymerzusammensetzungen von Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) und Poly(4-VP)-*co*-(VBP) sowie die Reaktionsausbeuten sind in Tabelle 6-2 aufgeführt. Die erhaltenen Copolymere zeigen in ihren Zusammensetzungen leichte Abweichungen von den eingestellten Werten. Bei den Copolymeren von 4-VP und DMMEP liegt bis zu einem DMMEP-Gehalt von 63 mol-% in der Monomermischung der Anteil an im Polymer eingebautem DMMEP im Mittel 7 mol-% unter dem Erwartungswert. Es wird also mehr 4-VP als theoretisch erwartet in die Polymerkette eingebaut. Ähnliches Verhalten zeigt sich für die Copolymerisation von 4-VP mit VBP. Auch hier wird mehr 4-VP in die Polymerketten eingelagert als über die Monomermischung eingestellt, wobei die mittleren Abweichungen bei 10 mol-% für einen VBP-Gehalt in der Monomermischung von  $\leq 63$  mol-% liegen und bei 5 mol-% für einen VBP-Gehalt  $> 63$  mol-%.



**Tabelle 6-2:** eingestellte und experimentell ermittelte Copolymerzusammensetzungen

Probe	4-VP Gehalt <sup>a)</sup> in mol-%		Ausbeute in wt.-%
	eingestellt	im Copolymer [m <sub>1</sub> ]	
a) Poly(4-VP)- <i>co</i> -(DMMEP) für die Synthese <b>kontaktbakterizider</b> Polymere:			
1a	28	24	52
1b	40	40	57
1c	51	60	75
1d	62	69	77
1e	74	79	78
b) Poly(4-VP)- <i>co</i> -(DMMEP) für die Synthese <b>vernetzbarer</b> Polymere / Komposite:			
1f	42	48	71
c) Poly(4-VP)- <i>co</i> -(VBP) für die Synthese <b>kontaktbakterizider</b> Polymere:			
2a	16	10	17
2b	27	20	35
2c	41	49	28
2d	49	60	27
2e	57	69	35
2f	66	78	45
a) Poly(4-VP)- <i>co</i> -(VBP) für die Synthese <b>silberhaltiger</b> Komposite:			
2g	59	65	49
2h	68	76	69
2i	79	82	77

<sup>a)</sup> über Elementaranalyse und <sup>1</sup>H-NMR ermittelt

Eine Erklärung für die beobachteten Abweichungen ist sicherlich in der Erhöhung der Reaktionszeiten und damit der Umsätze im Vergleich zu der Reaktionsreihe, anhand derer die r-Parameter ermittelt wurden,<sup>[62]</sup> zu sehen. Speziell bei den Copolymerisationen von 4-VP mit DMMEP wurden die Umsätze deutlich erhöht. Hier zeigt sich auch bereits innerhalb der hergestellten Polymere ein Einfluss des Umsatzes auf das Ausmaß der Abweichung der tatsächlichen Copolymerzusammensetzung von der eingestellten. So zeigen die Polymere mit einem DMMEP Gehalt  $\leq 60$  mol-% einen durchschnittlichen Umsatz von 75 wt.-% und eine Abweichung von der eingestellten Zusammensetzung von 7 mol-%, wohingegen der Umsatz bei Polymeren mit einem DMMEP Gehalt  $> 60$  mol-% bei 55 wt.-% liegt und die

Abweichung bei 3 mol-%. Reaktionen mit höherem Umsatz zeigen also stärkere Abweichungen von der eingestellten Copolymerzusammensetzung als Reaktionen mit niedrigeren Umsätzen. Im Gegensatz zur Copolymerisation von 4-VP mit DMMEP kann bei der Copolymerisation mit VBP allerdings kein Zusammenhang zwischen dem Umsatz der Reaktionen und dem Ausmaß der Abweichungen hergestellt werden. Daher ist ein weiterer entscheidender Punkt, der Einfluss auf die Copolymerzusammensetzungen hat, in der Reinheit der eingesetzten Monomere zu sehen. Da 4-VP kommerziell erworben wurde, ist für dieses Monomer eine gleichbleibende Qualität anzunehmen. Die phosphonathaltigen Monomere jedoch wurden in vorangegangener Reaktion hergestellt und aufgereinigt, so dass von unterschiedlichen Qualitäten bei unterschiedlichen Ansätzen auszugehen ist. Insbesondere der Restgehalt an Lösungsmittel nach den entsprechenden Aufreinigungsschritten variiert und sorgt für unterschiedlich stark ausgeprägte, aber in jedem Fall niedrigere Monomerkonzentrationen als berechnet. Dieser Zusammenhang erklärt auch, warum der Anteil an phosphonathaltigem Comonomer bei nahezu allen Synthesen zu gering ist. Trotz der beschriebenen Abweichungen war es insgesamt aber sowohl für die Copolymerisation von 4-VP mit DMMEP als auch mit VBP möglich, Polymerzusammensetzungen soweit gezielt über die Monomermischung einzustellen, dass die resultierenden Polymere für die im Rahmen dieser Arbeit geplanten weiteren Umsetzungen und Anwendungen geeignet sind. Die im Rahmen der Synthese kontaktbakterizider Polymere hergestellten wasserlöslichen Copolymere von 4-VP und DMMEP wurden außerdem hinsichtlich ihrer Molekulargewichte mittels GPC charakterisiert. Die untersuchten Polymere zeigen monomodale Verteilungen mit Polydispersitäten zwischen 1,13 und 1,39. Die Molekulargewichte liegen in einem Bereich zwischen 32 000 - 42 500 g/mol relativ zu Pullulan Standards (Tabelle 6-3).

**Tabelle 6-3:** Brechungsindices und Molekulargewichte von 4-VP-co-DMMEP

Polymer	Zusammensetzung	Brechungsindexinkrement (dn/dc) in ml/g	Molekulargewicht (Mn) in g/mol
1a	(VP) <sub>0.24</sub> (DMMEP) <sub>0.76</sub>	$0,1485 \pm 5,49 \times 10^{-3}$	39 700
1b	(VP) <sub>0.40</sub> (DMMEP) <sub>0.60</sub>	$0,1557 \pm 2,01 \times 10^{-3}$	42 500
1c	(VP) <sub>0.60</sub> (DMMEP) <sub>0.40</sub>	$0,1578 \pm 2,67 \times 10^{-3}$	32 000
1d	(VP) <sub>0.69</sub> (DMMEP) <sub>0.31</sub>	$0,1681 \pm 1,76 \times 10^{-3}$	41 400
1e	(VP) <sub>0.79</sub> (DMMEP) <sub>0.21</sub>		----- <sup>a)</sup>
<i>PolyDMMEP</i>		$0,1289 \pm 0,665 \times 10^{-3}$	$2,2 \times 10^6$

<sup>a)</sup> Molekulargewicht konnte nicht bestimmt werden, da das Polymer in Wasser unlöslich war

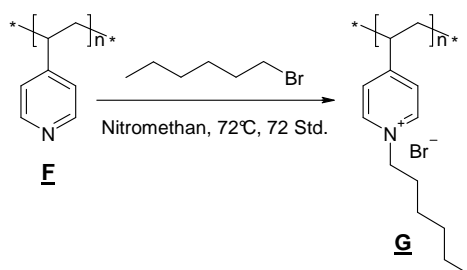
### 6.3. N-Alkylierung von Vinylpyridin-haltigen Präpolymeren

Die N-Alkylierung von PVP stellt eine Reaktion dar, die bereits seit Beginn des 20ten Jahrhunderts intensiv untersucht wird. MENSCHUTKIN et al. fanden heraus, dass eine Zunahme der dielektrischen Konstante des Lösungsmittels mit einer Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit bei der N-Alkylierung von PVP verbunden ist.<sup>[104]</sup> FUOSS et al. beschäftigten sich intensiv mit der N-Alkylierung von PVP durch Brombutan. Die Verwendung diverser Lösungsmittel mit hohen Dielektrizitätskonstanten als Reaktionsmedien zeigte, dass Alkohole nicht geeignet sind, da sie zu einer Alkoholyse des eingesetzten N-Alkylierungsreagenzes führen. Die Verwendung von Aceton und Formamid<sup>[105]</sup> führten zu der Bildung nicht charakterisierbarer Nebenprodukte. Als Standardverfahren setzte sich die Durchführung der Reaktion in Nitromethan durch. Allerdings muss beachtet werden, dass die *aci*-Form von Nitromethan in der Lage ist, durch Protonierung von 4-VP das entsprechende Salz zu bilden. Da die Addition von Alkylhalogeniden an Pyridingruppen eine irreversible Reaktion darstellt, sollte die Protonierung durch Nitromethan unter Verwendung eines Überschusses an N-Alkylierungsreagenz verhindert werden können.<sup>[106]</sup> Von FUOSS et al. durchgeführte kinetische Studien der N-Alkylierungsreaktion von PVP mit Brombutan zeigten, dass eine partielle N-Alkylierung bis zu einem Alkylierungsgrad von 10 mol-% durch einen linearen Anstieg des Umsatzes mit der Zeit charakterisiert ist. Eine N-Alkylierung zu höheren Umsätzen durch Einsatz eines Überschusses an Brombutan führt zu einer deutlichen Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit und zu einer Kinetik zweiter Ordnung. Die Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit wird durch den Aufbau von Ladungsdichte durch die positive Ladung an bereits N-alkylierten Stickstoffatomen hervorgerufen. Dabei ist zwischen drei unterschiedlichen Umgebungen, die auf eine Pyridingruppe wirken können, zu unterscheiden. Eine Pyridingruppe kann von unquartärnisierten Nachbargruppen umgeben sein, von einer quartärnisierten Nachbargruppe oder von zwei quartärnisierten Nachbargruppen. Aus diesem Grund werden nach FUOSS et al. drei Geschwindigkeitskonstanten  $k_0 > k_1 > k_2$  benötigt, um die Kinetik der N-Alkylierungsreaktion beschreiben zu können.<sup>[107]</sup> Im Gegensatz zu FUOSS et al. sehen BOUCHER et al. die Verlangsamung der Reaktion vorwiegend in sterischen Effekten des eingesetzten Organobromids begründet.<sup>[108]</sup> Ausgehend von beiden Ansätzen formulierten FRERE et al. einen kinetischen Ausdruck, der die Alkylierungsreaktion von PVP durch zwei Parameter  $k_0$  und  $\beta$  beschreibt.<sup>[109]</sup>  $K_0$  charakterisiert die Reaktivität der Pyridingruppe gegenüber dem Reaktanden,  $\beta$  die sterische Hinderung in Bezug auf Größe und chemische Natur des Reaktanden sowie in Bezug auf die Eigenschaften des makromolekularen Knäuels. BIESALSKI et al. untersuchten den Verlauf der N-Alkylierung von kovalent an Silizium(oxid)-

oberflächen gebundenem PVP mit Brombutan. Sie beobachteten einen nahezu linearen Anstieg des Umsatzes innerhalb der ersten 30 Stunden der Reaktion, bevor sich der Umsatz einem Plateauwert nähert, der nach 70 bis 80 Stunden erreicht wird.<sup>[110]</sup> Dieser Verlauf entspricht dem von FUOSS et al. beschriebenen Verlauf für die analoge Reaktion in Lösung. Die Beobachtung von BIESALSKI et al. deutet also darauf hin, dass die Kinetik der N-Alkylierungsreaktion bei der Übertragung auf an Oberflächen gebundene Polymere erhalten bleibt.

### 6.3.1. Darstellung (partiell) N-alkylierter Polymere

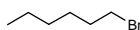
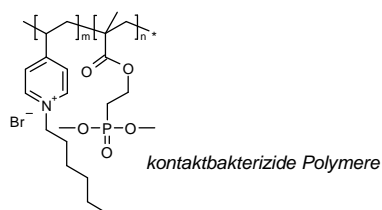
Die Einführung von kationischen Gruppen in PVP **F** und die synthetisierten Copolymere erfolgt durch N-Alkylierung des enthaltenen 4-VP in einer  $S_N2$ -Reaktion (Abbildung 6-7). Als N-Alkylierungsreagenz dienen Bromhexan bzw. Bromhexen. Bromhexan ermöglicht nach TILLER et al. aufgrund seiner Kettenlänge eine optimale Penetration in das Innere der bakteriellen Zellmembran.<sup>[11]</sup> Bromhexen wird mit dem Ziel der Synthese thermisch vernetzbarer Polymere eingesetzt, da es sich in der Kettenlänge nicht von Bromhexan unterscheidet, aber durch das Einführen einer ungesättigten Doppelbindung die Möglichkeit der thermischen Vernetzbarkeit bieten soll.



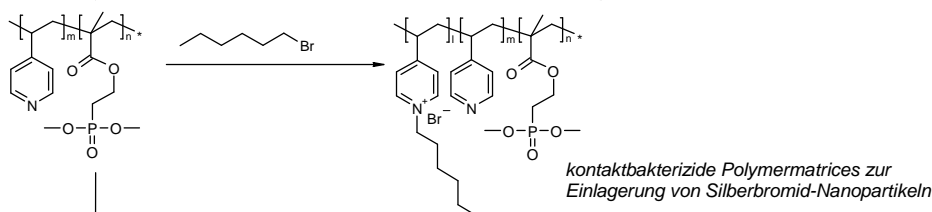
**Abbildung 6-7:** N-Alkylierungsreaktion am Beispiel von PVP mit Bromhexan

Damit ergeben sich die in Abbildung 6-8 anhand des Copolymersystems 4-VP und DMMEP gezeigten N-Alkylierungsschritte im Rahmen polymeranaloger Umsetzungen. Für die Synthese potentiell kontaktbakterizider Polymere wird die unter a) dargestellte vollständige N-Alkylierung angestrebt, für die Synthese von Polymermatrices zur Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln die unter b) dargestellte partielle N-Alkylierung und für die Synthese thermisch vernetzbarer Polymere und Polymermatrices zur Einlagerung von Silberbromid die unter c) dargestellte partielle N-Alkylierung unter (anteiliger) Verwendung von Bromhexen.

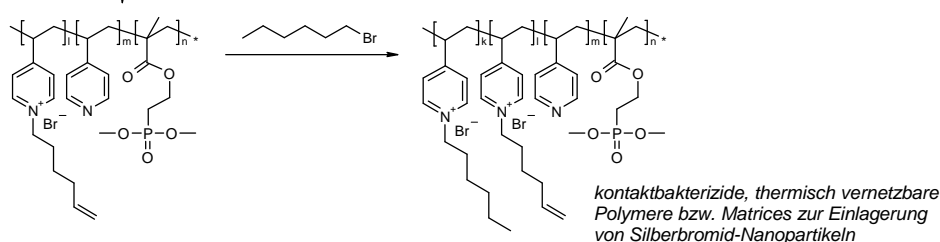
## a) vollständige N-Alkylierung



## b) partielle N-Alkylierung



## c) partielle N-Alkylierung unter Verwendung von Bromhexan und Bromhexen



**Abbildung 6-8:** Übersicht der durchgeführten N-Alkylierungsreaktionen am Beispiel Poly(4-VP)-co-(DMMEP)

Als Methoden zur qualitativen und quantitativen Untersuchung der N-Alkylierungsreaktion können FTIR- und  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie eingesetzt werden. Die bei beiden Methoden in Folge der N-Alkylierung auftretenden zusätzlichen Signale bzw. die Verschiebung von Signalen soll im Folgenden anhand des einfachsten Beispiels der N-Alkylierung von PVP beschrieben werden. Diese Beobachtungen sind aber auf alle Systeme übertragbar. Das FTIR-Spektrum von PVP zeigt Aryl-H-Valenzschwingungen des Vinylpyridins im Bereich von  $3000\text{ cm}^{-1}$  und die entsprechenden C=C-Streckschwingungen bei  $1771\text{ cm}^{-1}$ . Nachdem PVP in hexyl-PVP überführt wurde, verschiebt sich die Bande der C=C-Streckschwingungen von  $1771\text{ cm}^{-1}$  zu Werten von  $1843\text{ cm}^{-1}$ , was den Streckschwingungen der entsprechenden N-alkylierten Spezies entspricht. Diese Verschiebung der C=C-Streckschwingungen infolge von N-Alkylierung steht in Übereinstimmung mit den von BIESALSKI et al. und PANOV et al. gemachten Beobachtungen.<sup>[110, 111]</sup> Außerdem tritt eine ebenfalls von Panov et al. beschriebene Veränderung der Bande im Bereich von  $3000\text{ cm}^{-1}$  auf, da neben den Aryl-H-Valenzschwingungen des Vinylpyridins nun auch ein durch die Valenzschwingungen der

CH<sub>2</sub>- und CH<sub>3</sub>-Gruppen der Hexylseitenketten hervorgerufenes Signal bei 2917 bzw. 3214 cm<sup>-1</sup> zu beobachten ist.<sup>[111]</sup> Des Weiteren sind nach N-Alkylierungsreaktion die von GHANSHYAM et al. beschriebenen Ober- und Kombinationsschwingungen des quartären Ammoniumsalzes im Bereich von 1900 bis 2280 cm<sup>-1</sup> zu beobachten.<sup>[112]</sup> FTIR-Spektren werden in der vorliegenden Arbeit ausschließlich zur qualitativen Auswertung von N-Alkylierungsreaktionen genutzt. Eine quantitative Bestimmung erfolgt mit Hilfe der <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie. Hierbei werden die Integrale der von der eingefügten Alkylkette herrührenden Protonensignale bei 4,6 ppm, 3,3 ppm, 1,3 ppm und 1,8 ppm mit den Integralen der Signale der aromatischen Protonen des Pyridinrings bei 8,2 ppm und 8,9 ppm in Relation gesetzt und somit der N-Alkylierungsgrad bestimmt. Bei partieller N-Alkylierung lassen sich nicht nur die Integrale der von der eingefügten Alkylkette herrührenden Protonensignale mit den Integralen der Signale der aromatischen Protonen des Pyridinrings in Relation setzen, sondern es ist auch eine Tieffeldverschiebung der Signale von α- und β-Protonen der N-alkylierten Pyridingruppen zu beobachten. Diese Verschiebung ist durch eine Schwächung der diamagnetischen Abschirmung von Protonen durch benachbarte Ringsysteme zu erklären, wenn diese eine ausgeprägte positive Ladung tragen. Das Ausmaß der Tieffeldverschiebung ist dabei unabhängig vom N-Alkylierungsgrad und beträgt wie von PANOVA et al. beschrieben etwa 0,65 ppm.<sup>[111]</sup> Für die Bestimmung des N-Alkylierungsgrades durch Bromhexan werden die Integrale der olefinischen Protonen der Hexenylkette bei 5,0 ppm und 5,8 ppm mit den Integralen der Signale der aromatischen Protonen des Pyridinrings in Relation gesetzt.

#### 6.3.1.1. Vollständige und partielle N-Alkylierung mit Bromhexan

Die N-Alkylierung von PVP, Poly(4-VP)-co-(DMMEP) und Poly(4-VP)-co-(VBP) erfolgt in Anlehnung an die Standardbedingungen nach FUOSS et al.<sup>[106]</sup> Dabei wird für eine vollständige N-Alkylierung der Präpolymere ein 1,5 facher Überschuss von Bromhexan bezogen auf die Menge an Pyridineinheiten eingesetzt. Für die partielle N-Alkylierung der Copolymere hingegen wird eine dem gewünschten Alkylierungsgrad entsprechende Menge Bromhexan eingesetzt. Um bei der Synthese kontaktbakterizider Polymermatrices zur Einlagerung von Silberbromid den Einfluss des N-Alkylierungsgrades auf Menge und Größe der eingelagerten Nanopartikel zu untersuchen, werden für eine Zusammensetzung von Poly(4-VP)-co-(VBP) jeweils Alkylierungsgrade von 20 mol-% und 50 mol-% angestrebt. Die Reaktionsmischungen werden für 72 Stunden bei 72°C gehalten, da die N-Alkylierungsreaktion von Pyridin sich wie in Kapitel 6.3. dargestellt nach anfänglicher Zunahme des Umsatzes einem Plateauwert nähert, der nach 70 – 80 Stunden erreicht wird.

### 6.3.1.2. Partielle N-Alkylierung unter Verwendung von Bromhexan und Bromhexen

Bei der N-Alkylierung unter Verwendung von Bromhexen sind im Vergleich zur Verwendung von Bromhexan zwei Punkte zu beachten. Zum einen birgt der Einsatz von Bromhexen, das über eine ungesättigte Doppelbindung verfügt, die Gefahr von Vernetzungsreaktionen. Zum anderen stellte sich heraus, dass die N-Alkylierungsreaktion mit Bromhexen deutlich langsamer abläuft als die entsprechende Reaktion mit Bromhexan. Aus diesen beiden Gründen werden im Vergleich zur N-Alkylierungsreaktion mit Bromhexan folgende Modifizierungen vorgenommen: Zur Vermeidung von Vernetzungen wird der Reaktion Methoxyphenol als Stabilisator zugesetzt. Aufgrund der langsameren Reaktion mit Bromhexen wird die N-Alkylierung zwar als „one pot synthesis“ durchgeführt, aber in zwei Reaktionsschritten. Zunächst erfolgt über 72 Stunden bei 72°C die Reaktion mit Bromhexen, bevor Bromhexan zugesetzt und die Reaktion weitere 72 Stunden bei 72°C gehalten wird. Es wird für alle Polymere ein Gesamtalkylierungsgrad von 50 mol-% angestrebt, wobei vier unterschiedliche Abstufungen des Verhältnisses von Bromhexan zu Bromhexen vorgenommen werden. Dies soll eine Untersuchung des Einflusses des über N-Alkylierung eingefügten Anteils vernetzbarer Gruppen auf antimikrobielle Aktivität und Schichtdicke der resultierenden Polymere ermöglichen.

### 6.3.1.3. Ergebnisse der N-Alkylierungsreaktionen

Sowohl die vollständige als auch partielle N-Alkylierung von PVP und 4-VP-haltigen Copolymeren unter Verwendung von Bromhexan konnte erfolgreich durchgeführt werden. Gleiches gilt für die partielle N-Alkylierung von 4-VP-haltigen Copolymeren unter Verwendung von Bromhexan und Bromhexen. Dabei fand die N-Alkylierungsreaktion der Copolymere von 4-VP und DMMEP zur Synthese kontaktbakterizider Polymere quantitativ statt. Für das Homopolymer PVP sowie die Copolymere von 4-VP und VBP wurden N-Alkylierungsgrade zwischen 81 mol-% und 100 mol-% erhalten, wobei drei der sieben umgesetzten Polymere einen Alkylierungsgrad < 100 mol-% zeigten. Die partielle N-Alkylierung zur Synthese von Copolymermatrices von 4-VP und VBP zur in-situ Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln zeigte gute Übereinstimmung zwischen eingestelltem und erzieltm N-Alkylierungsgrad. Es sind lediglich leichte Abweichungen nach oben zu beobachten (Tabelle 6-4). Bei der partiellen N-Alkylierung zur Synthese thermisch vernetzbarer Copolymermatrices ist zwischen der Alkylierung mit Bromhexen und der im Anschluss durchgeführten Alkylierung mit Bromhexan zu unterscheiden. Wie aus Tabelle 6-4 ersichtlich wird, stimmen bei der N-Alkylierung durch Bromhexen bis zu einem

Grad von ~ 24 mol-% die über  $^1\text{H}$ -NMR ermittelten Werte mit den eingestellten Werten gut überein. Bei Alkylierungsgraden größer 24 mol-% liegt der tatsächlich bestimmte Wert unter dem theoretischen Erwartungswert. Diese Tendenz nimmt mit steigender N-Alkylierung durch Bromhexen zu. Bei der anschließenden N-Alkylierung mit Bromhexan liegen die tatsächlich bestimmten N-Alkylierungsgrade generell niedriger als die eingestellten Werte. Dabei nimmt die Abweichung mit steigendem N-Alkylierungsgrad durch Bromhexan zu. Der Gesamtalkylierungsgrad liegt zwischen 35,8 mol-% und 43 mol-%, wobei er mit steigendem Gehalt an Bromhexen zunimmt.

**Tabelle 6-4:** Übersicht über partielle N-Alkylierungsreaktionen mit Bromhexan und / oder Bromhexen

Probe	Zusammensetzung	N-Alkylierungsgrad in %			
		Bromhexan		Bromhexen	
		eingestellt	nach NMR	eingestellt	nach NMR
a) Copolymer von 4-Vinylpyridin mit VBP für die Synthese silberhaltiger Komposite:					
2g	(VP) <sub>0.65</sub> (VBP) <sub>0.35</sub>	20	23		
		50	51		
2h	(VP) <sub>0.76</sub> (VBP) <sub>0.24</sub>	20	26		
		50	58		
2i	(VP) <sub>0.82</sub> (VBP) <sub>0.18</sub>	20	24		
		50	61		
b) Copolymer von 4-Vinylpyridin mit DMMEP für die Synthese vernetzbarer Polymere:					
1f	(VP) <sub>0.48</sub> (DMMEP) <sub>0.52</sub>	34,5	22,8	14,2	13,0
		24,6	15,6	24,5	24,0
		14,8	11,6	34,8	28,5
		-----	-----	50,3	43,0

Diese Beobachtungen lassen darauf schließen, dass die erste N-Alkylierungsreaktion bei dem Einsatz niedriger Bromhexen-Konzentrationen den eingestellten Alkylierungsgrad erreicht, die anschließende Umsetzung mit Bromhexan hingegen nicht vollständig abläuft. Bei dem Einsatz höherer Bromhexen-Konzentrationen hingegen erreicht die erste Alkylierungsreaktion den eingestellten Alkylierungsgrad nicht, die anschließende Umsetzung mit Bromhexan läuft aber nahezu vollständig ab. Ein Grund für die beobachteten Ausmaße der einzelnen N-Alkylierungsreaktionen kann in der eingangs beschriebenen geringeren Reaktionsgeschwindigkeit bei der Umsetzung mit Bromhexen gesehen werden. So ist die Reaktion mit



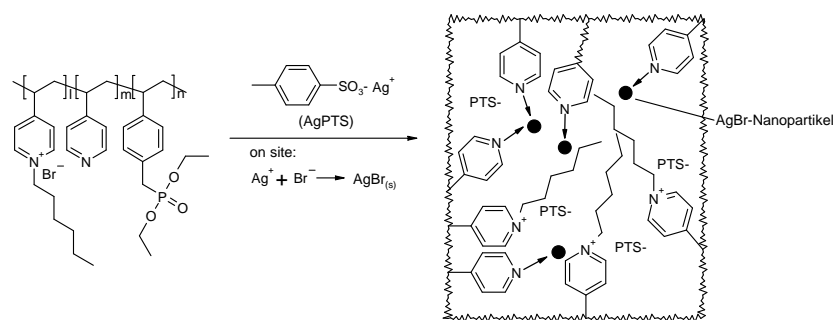
Bromhexen bei angestrebten hohen Alkylierungsgraden vor Zugabe von Bromhexan noch nicht abgeschlossen und hat im weiteren Verlauf eine bevorzugte Umsetzung von Bromhexan zur Folge. Zudem erreicht der Gesamtalkylierungsgrad den eingestellten Wert von 50 mol-% nicht, sondern weist Umsätze zwischen 36 mol-% und 43 mol-% auf.

Die beschriebenen Beobachtungen im Rahmen der durchgeführten N-Alkylierungen werfen die Frage auf, warum PVP und Copolymere von 4-VP mit DMMEP quantitativ umgesetzt werden, Copolymere von 4-VP mit VBP hingegen einen durchschnittlichen Alkylierungsgrad von ~ 82 mol-% erreichen. Weiterhin stellt sich die Frage, wie das Reaktionsverhalten bei dem Einsatz von Bromhexan und Bromhexen als Alkylierungsreagenz zu deuten ist. Die in der Literatur aufgestellten kinetischen Modelle zur N-Alkylierung von PVP liefern nur bedingt Erklärungsansätze. Die von FUOSS et al. beschriebene Verlangsamung der Alkylierung durch den Aufbau von Ladungsdichte während der Reaktion<sup>[105, 107]</sup> sowie die von BOUCHER et al. herangezogenen sterischen Effekten des eingesetzten Organobromids<sup>[108]</sup> begründen eine generelle Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigendem Umsatz. Sie sind aber nicht in der Lage, die beobachteten Unterschiede bei der Alkylierung von PVP, Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) und Poly(4-VP)-*co*-(VBP) zu erklären. Bei der N-Alkylierung unter Verwendung von Bromhexen und Bromhexan kann eine Abnahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigendem Umsatz auch nur dann Grund für die beobachteten Abweichungen vom eingestellten Alkylierungsgrad sein, wenn der Gesamtalkylierungsgrad für alle Proben einen konstanten Wert annehmen würde. Dies ist jedoch nicht der Fall und widerspricht somit den Theorien von FUOSS und von BOUCHER. Betrachtet man die im Rahmen der durchgeführten N-Alkylierungsreaktionen auf die von FRERE et al. formulierten Parameter  $k_0$  und  $\beta$ <sup>[109]</sup> Einfluss nehmenden Faktoren, so nimmt das eingesetzte organische Bromid insofern Einfluss auf  $k_0$ , als dass Unterschiede in der Reaktivität von isolierten Pyridyl-Gruppen von der chemischen Natur der Substituenten an  $\alpha$ - und  $\beta$ -Kohlenstoffen der Organobromide abhängen. An diesen Positionen unterscheiden sich Bromhexan und Bromhexen aber nicht, so dass kein unterschiedlicher Einfluss auf  $k_0$  ausgewirkt werden sollte. Auch sollten die Faktoren Größe und Polarität des organischen Bromids, die bestimmend für den Faktor  $\beta$  sind, für Bromhexan und Bromhexen vergleichbar sein. Folglich erklärt auch der von FRERE et al. beschriebene Ansatz die unterschiedliche Reaktivität von Bromhexan und Bromhexen nicht. Der Faktor  $\beta$  wird aber auch dadurch beeinflusst, dass die Konformation des Polymerknäuels Auswirkung auf die Reaktivität hat. In einem guten Lösungsmittel, in dem das Polymerknäuel aufgeweitet vorliegt, ist die Reaktivität als höher anzusehen als in einem schlechten Lösungsmittel, in dem das Knäuel kontrahiert. Unterstellt man eine

unterschiedlich gute Löslichkeit der verschiedenen Copolymere in Nitromethan, so stellt dieser Punkt eine Erklärung für die Beobachtung dar, dass Copolymere von 4-VP mit DMMEP vollständig N-alkyliert werden konnten, Copolymere von 4-VP mit VBP hingegen nur in zwei Fällen. Allerdings wird der Unterschied im Reaktionsverhalten von Bromhexen im Vergleich zu Bromhexan auch hierdurch nicht erklärbar. Somit muss in Betracht gezogen werden, dass bei der Verwendung von Bromhexen als N-Alkylierungsreagenz Nebenreaktionen auftreten, welche die Konzentration von Bromhexen im Reaktionsmedium herabsetzen. Dies kann beispielsweise die Bildung von Oligomeren durch Reaktion der Doppelbindung sein.

#### 6.4. Silberhaltige Kompositmaterialien

Wie in Kapitel 4 diskutiert wird neben der Entwicklung von Polymeren, deren antimikrobielle Wirksamkeit ausschließlich auf den kontaktbakteriziden Eigenschaften von hexyl-VP beruht, auch die Herstellung von Kompositmaterialien angestrebt, die sowohl über kontaktbakterizide Eigenschaften verfügen als auch biozid wirksame Silberionen freisetzen können. Hierzu werden in Anlehnung an SAMBHY et al.<sup>[45]</sup> in einer in-situ Fällungsreaktion Silberbromid-Nanopartikel in kationische partiell N-alkylierte Polymermatrices eingelagert. Dabei wird das mit den Pyridiniumgruppen der amphiphilen Polymerketten assoziierte Bromidanion durch Zugabe eines Silbersalzes gefällt. Da die Ausfällung in unmittelbarer Nähe zu den Polymerketten stattfindet, sollen die wachsenden Silberbromid-Nanopartikel durch Wechselwirkung mit den freien Elektronenpaaren des Stickstoff-Atoms in nicht N-alkyliertem Vinylpyridin<sup>[113, 114]</sup> und durch sterische Effekte des Polymers stabilisiert und an einer Aggregation gehindert werden. Als Matrices werden die unter 6.3.1.1. beschriebenen partiell N-alkylierten Polymere von Poly(4-VP)-*co*-(VBP) und die unter 6.3.1.2. beschriebenen partiell mit Bromhexan und Bromhexen N-alkylierten thermisch vernetzbaren Polymere von Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) eingesetzt. Abbildung 6-9 zeigt das Prinzip der Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in eine Polymermatrix von partiell N-alkyliertem Poly(4-VP)-*co*-(VBP).



**Abbildung 6-9:** Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in kationische Polymermatrix

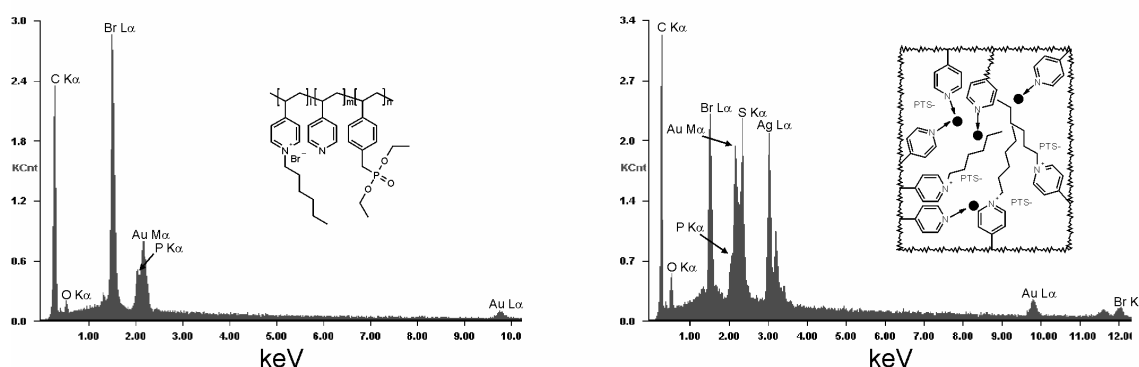
Insgesamt werden sechs unterschiedliche, nicht vernetzbare Polymere eingesetzt, wobei jeweils zwei dieser Polymere über die gleiche Copolymerzusammensetzung, aber einen unterschiedlichen Alkylierungsgrad ( $\sim 20$  mol-% bzw.  $\sim 50$  mol-%) verfügen. Für die Verwendung von thermisch vernetzbaren Systemen als Polymermatrix wurden insgesamt vier Polymere gleicher Copolymerzusammensetzung ausgewählt. Der Alkylierungsgrad wurde für alle Polymere auf insgesamt 50 mol-% eingestellt, wobei aber der Anteil an N-Alkylierung durch Bromhexen bzw. Bromhexan variiert wurde. Durch die beschriebene Polymerauswahl soll umfassend studiert werden können, in welcher Form die Parameter Copolymerzusammensetzung, Alkylierungsgrad und Verhältnis von Bromhexen zu Bromhexan als Alkylierungsreagenz Einfluss auf bestimmte Eigenschaften des Polymer- bzw. Kompositmaterials haben. Unter diese Eigenschaften fallen die nach Anbindung an Titanoberflächen ausgebildeten Schichtdicken, die kontaktbakterizide Aktivität, die Menge an eingelagertem Silberbromid sowie die Größenordnung und -verteilung der eingelagerten Nanopartikel.

#### 6.4.1. Darstellung silberhaltiger Kompositmaterialien

Die Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln erfolgt durch in-situ Fällungsreaktion der mit den amphiphilen Pyridinium-haltigen Polymeren assoziierten Bromidanionen, wobei Silber para-Toluolsulfonat (AgPTS) als Fällungsreagenz eingesetzt wird. Das molare Verhältnis von Silberionen zu im Polymer enthaltenen Bromidionen beträgt für alle Umsetzungen 1:1. Der Nachweis einer erfolgreichen Einlagerung von Silberbromid in die Polymermatrices kann qualitativ mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) im Rasterelektronenmikroskop (REM) vorgenommen werden. Eine Quantifizierung der eingelagerten Silberbromid-Menge ist über die thermogravimetrische Analyse (TGA) möglich. Die Größe der eingelagerten Partikel sowie eine Größenverteilung kann durch Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ermittelt werden.

### 6.4.1.1. Qualitative Untersuchung der Einlagerung von Silberbromid

Um Aussagen über den Erfolg der Einlagerung von Silber in eine Polymermatrix zu machen, bietet sich als eine Methode EDX an. Dabei ist aber zu beachten, dass Informationen bezüglich der elementaren Zusammensetzung von ausgewählten Kompositregionen gewonnen werden. Quantitative Aussagen über die Zusammensetzung eines Kompositmaterials lassen sich folglich nur in Form von Stichpunkt-Analysen machen und können nicht auf das gesamte Material übertragen werden. Daher sind die Ergebnisse der EDX-Untersuchungen bezüglich der Silbereinlagerung lediglich als qualitative Aussagen zu betrachten. Ein Vergleich der aufgenommenen Spektren vor und nach dem Umsatz mit AgPTS lassen auf eine erfolgreiche Einlagerung von Silber schließen. Abbildung 6-10 zeigt die elementare Zusammensetzung der Polymermatrix von (hexyl-VP)<sub>0,5</sub>(VP)<sub>0,32</sub>(VBP)<sub>0,18</sub> (2i (61%)) vor der Umsetzung mit AgPTS. Das Spektrum zeigt die für das Polymer erwarteten Signale von Kohlenstoff, Sauerstoff, Phosphor und Brom. Die Anwesenheit von Stickstoff kann aufgrund einer Überlagerung mit dem Signal von Kohlenstoff und Sauerstoff weder nachgewiesen noch ausgeschlossen werden.



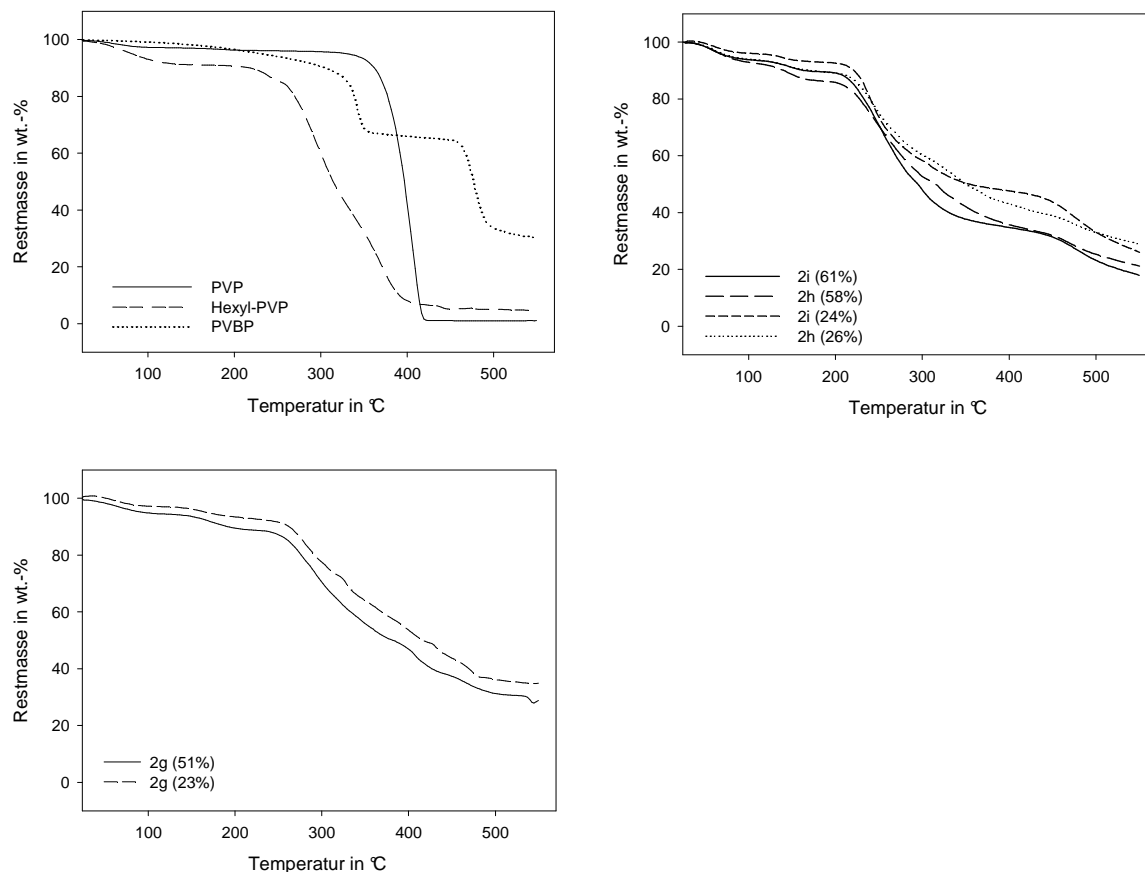
**Abbildung 6-10:** EDX-Spektrum von (hexyl-VP)<sub>0,5</sub>(VP)<sub>0,32</sub>(VBP)<sub>0,18</sub> vor (linke Seite) und nach (rechte Seite) der Umsetzung mit AgPTS

Nach Umsatz der Polymermatrix mit AgPTS zeigt das Spektrum neben den Signalen der im Polymer enthaltenen Elemente auch signifikante Mengen an Silber. Weiterhin tritt ein Schwefelsignal auf, das auf die Anwesenheit des als Gegenion zum Silber eingesetzten PTS<sup>-</sup> zurückzuführen ist.

### 6.4.1.2. Quantitative Untersuchung der Einlagerung von Silberbromid

Eine Quantifizierung des in einer Polymermatrix eingelagerten Silber- bzw. Silberbromid-Gehalts wird mittels thermogravimetrischer Analyse vorgenommen. Es werden die Zersetzungskurven der Polymere vor und nach der Umsetzung mit AgPTS ermittelt. Durch Korrelation dieser Kurven wird der Massenanteil an eingelagertem Silberbromid berechnet.

Zur Beurteilung des Degradationsverhaltens der Copolymermatrices ist ebenfalls das Degradationsverhalten der entsprechenden Homopolymere von Interesse. Abbildung 6-11 zeigt die Massenänderungen sowohl der für die Einlagerung von Silber verwendeten partiell N-alkylierten Polymere von Poly(4-VP)-*co*-(VBP) als auch der Homopolymere von 4-VP (PVP), hexyl-VP (Hexyl-PVP) und VBP (PVBP) als Funktion der Temperatur bei Erhitzen von 25 °C auf 550 °C..



**Abbildung 6-11:** Zersetzungskurven der Homopolymere von 4-VP, hexyl-VP, VBP und der partiell N-alkylierten Polymere von Poly(4-VP)-*co*-(VBP)

Die Kurvenverläufe von hexyl-PVP und von PVP zeigen einen einstufigen Prozess mit Zersetzungstemperaturen von 254 °C bzw. 379 °C. Außerdem zeigt hexyl-PVP einen geringen Masseverlust in einem Temperaturbereich von 50-140 °C, der auf den Verlust von Lösungsmittelresten (Diethylether) und Wasser zurückzuführen ist. Die Anfälligkeit von hexyl-PVP zur Adsorption von Wasser und die Freisetzung in einem Bereich zwischen 110-130 °C deckt sich mit den Beobachtungen von HUANG et al.<sup>[115]</sup> Die Zersetzungskurve von PVBP zeigt einen zweistufigen Prozess mit einer ersten Zersetzungstemperatur von 332 °C und einer weiteren von 465 °C. Die partiell N-alkylierten Copolymere zeigen nach initialem Lösungsmittel- und Wasserverlust alle einen dreistufigen Degradationsprozess,

wobei die erste Stufe am deutlichsten, die zweite Stufe weniger deutlich und die dritte Stufe nur sehr schwach ausgeprägt ist. Die Zuordnung der ersten und zweiten Stufe kann unter zwei unterschiedlichen Aspekten erfolgen. Zum einen kann die erste Stufe der Degradation von Segmenten, die fast ausschließlich aus hexyl-PVP bestehen, zugeordnet werden. Die zweite Stufe beschreibt die Degradation von Segmenten statistischer Copolymere und die dritte Stufe die Degradation von Segmenten, die fast ausschließlich aus PVBP gebildet werden. Analoge Beobachtungen und Zuordnungen der Degradationsstufen werden von RODRIGUEZ-BAEZA et al. für die thermische Zersetzung von Poly(oxymethylen)-*co*-(dimethyl-siloxan) beschrieben.<sup>[116]</sup> Die Ausmaße der einzelnen Degradationsprozesse (Tabelle 6-5) lassen darauf schließen, dass die Konzentration von Segmenten aus hexyl-PVP / PVP in den Polymeren überwiegt und die Konzentration von Segmenten statistischer Copolymere und von Segmenten aus PVBP gering ist. Da der erste Degradationsprozess sich über einen breiten Bereich erstreckt und von dem zweiten nicht scharf getrennt werden kann, kann vermutet werden, dass nicht nur eine Unterteilung in Segmente aus hexyl-PVP und statistische Copolymerbereiche eine Rolle spielt, sondern auch eine Unterteilung in N-alkylierte und nicht N-alkylierte Bereiche.

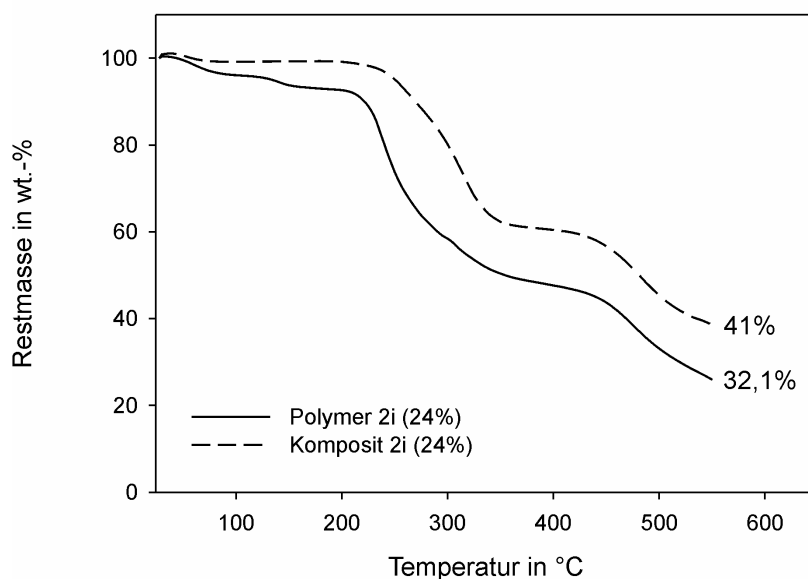
**Tabelle 6-5:** Thermische Zersetzungstemperaturen der Degradationsstufen und Massenabnahmen von partiell N-alkylierten Copolymeren und den entsprechenden Homopolymeren

Polymer	$\chi_{\text{VBP}}^{\text{a)}$	$T_{\text{D1}}$ in °C	-m <sub>1</sub> in wt.-%	$T_{\text{D2}}$ in °C	-m <sub>2</sub> in wt.-%	$T_{\text{D3}}$ in °C	-m <sub>3</sub> in wt.-%
PVP		379	96,30				
hexyl-PVP		254	86,43				
PVBP		332	34,64			465	34,47
2g (23%)	0,35	262	24,03	324	29,49	429	8,70
2g (51%)	0,35	258	44,31	398	12,17	454	8,63
2h (26%)	0,24	223	25,44	320	28,76	453	9,66
2h (58%)	0,24	215	40,82	315	18,46	452	11,01
2i (24%)	0,18	223	35,45	302	11,02	446	19,71
2i (61%)	0,18	217	42,76	297	16,44	452	15,30

<sup>a)</sup> Molenbruch der VBP-Comonomereinheiten im Copolymer

Ein Vergleich der Copolymere untereinander zeigt, dass Polymere gleicher Zusammensetzung aber unterschiedlicher N-Alkylierungsgrade wie z. B. Polymer *2i* (61%) und *2i* (24%) in ihrem Verlauf identische Degradationskurven aufweisen, wobei diese bei dem höher N-alkylierten Polymer aber zu höheren Masseverlusten verschoben sind. Da mit dem N-Alkylierungsgrad auch der Bromidgehalt im Polymer steigt, kann der höhere Masseverlust mit der Bildung leichtflüchtiger Bromide erklärt werden. Ein Vergleich der Polymere mit VBP-Gehalten von 18 mol-% bzw. 24 mol% (*2i* und *2h*) mit den Polymeren mit einem VBP-Gehalt von 35 mol% (*2g*) zeigt für die Polymere mit höherem VBP-Gehalt höhere Zersetzungstemperaturen für den ersten Degradationsprozess sowie einen geringeren Gesamtmasseverlust. Dies lässt darauf schließen, dass eine Erhöhung des VBP-Anteils im Polymer eine Verschiebung zu höheren Zersetzungstemperaturen und geringeren Gesamtmasseverlusten bewirkt wie auch der Vergleich der Zersetzungskurven der Homopolymere untereinander vermuten lässt. Zusammenfassend ist das Degradationsverhalten der partiell N-alkylierten Copolymere also durch zwei Faktoren bestimmt. Bei vergleichbaren VBP-Gehalten nimmt mit steigendem N-Alkylierungsgrad der Gesamtmasseverlust zu. Bei vergleichbaren N-Alkylierungsgraden hingegen nimmt der Gesamtmasseverlust mit steigenden VBP-Gehalten ab.

Die Zersetzungskurven der Kompositmaterialien nach Umsetzung mit AgPTS zeigen einen mit dem jeweiligen Polymer vergleichbaren Verlauf wie in Abbildung 6-12 exemplarisch für Polymer / Komposit *2i* (24%) dargestellt.



**Abbildung 6-12:** Vergleich der Zersetzungskurven von Kompositmaterial und Polymermatrix und Restmassen nach Korrektur um Lösungsmittel- und Wassergehalt

Das in dem Komposit eingebettete, schwer flüchtige Silberbromid bewirkt eine Verschiebung der Zersetzungskurve hin zu geringeren Masseverlusten. Außerdem fallen bei den Polymeren beobachteter erster und zweiter Degradationsprozess für die Komposite zu einem Prozess zusammen ( $T_{D1}$  in Tabelle 6-6). Dies unterstützt die Vermutung, dass nicht nur eine Unterteilung in Segmente aus hexyl-PVP und statistische Copolymerbereiche bei der Degradation eine Rolle spielt, sondern auch eine Unterteilung in N-alkylierte und nicht N-alkylierte Bereiche. Die im Polymer durch Zugabe von AgPTS ausgefällten Silberbromid-Partikel werden neben dem sterischen Effekt des Polymers entscheidend durch das freie Elektronen-paar nicht N-alkylierten Vinylpyridins stabilisiert. Dadurch gleichen sich Segmente nicht N-alkylierten Vinylpyridins in ihren elektronischen Eigenschaften den polykationischen N-alkylierten Segmenten an, was sich im Degradationsverhalten durch ein Angleichen der beiden Stufen äußert.

**Tabelle 6-6:** Thermische Zersetzungstemperaturen der Degradationsstufen und Massenabnahmen der Kompositmaterialien

Komposit	$T_{D1}$ in °C	-m <sub>1</sub> in wt.-%	$T_{D3}$ in °C	-m <sub>3</sub> in wt.-%
2g (51%)	309	51,05	487	2,35
2h (26%)	269	39,17	437	21,87
2h (58%)	275	43,09	437	17,26
2i (24%)	256	38,77	445	20,12
2i (61%)	276	37,21	439	17,47

Durch den Vergleich der Zersetzungskurven von Polymer und entsprechendem Kompositmaterial ist eine quantitative Bestimmung des eingelagerten Silberbromid-Gehalts möglich. Dazu werden die Differenzen der um Lösungsmittel- und Wassergehalt korrigierten Restmassen des Polymers und des Komposits gebildet und diese Werte dem Gewichtsanteil des eingelagerten Silberbromids gleichgesetzt (Tabelle 6-7). Diese Vorgehensweise erfolgt analog SAMBHY et al.<sup>[45]</sup> und macht die Annahme, dass bei der Degradation der Polymere das enthaltene Bromid in Form leichtflüchtiger Bromide verloren geht und die Differenz der Masseverluste von Polymer und Komposit somit dem Silberbromid- und nicht dem Silbergehalt entspricht.

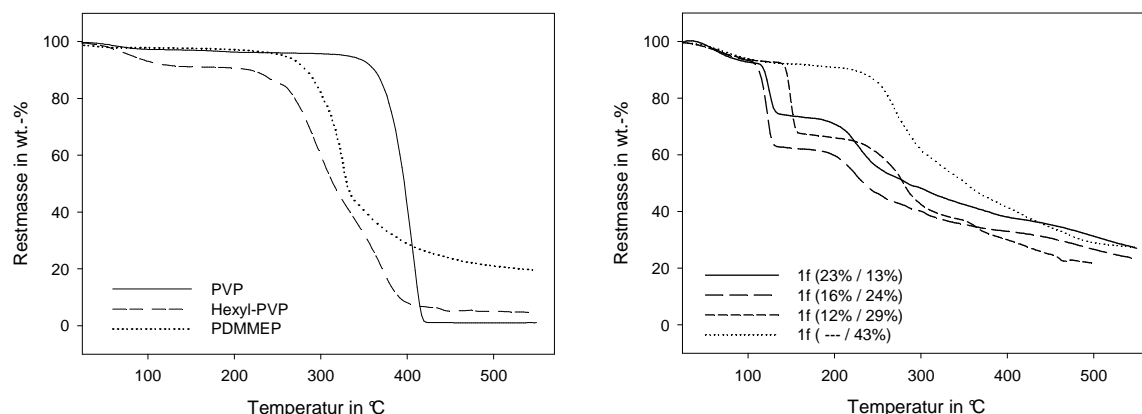


**Tabelle 6-7:** Restmassen von Polymer- und Kompositmaterialien nach thermischer Zersetzung und daraus ermittelter sowie theoretisch erwarteter Silberbromid-Gehalt

Probe	Restmasse in wt.-%		Silberbromidgehalt in wt.-%	
	Polymer	Komposit	TGA	theoretisch
2g (51%)	28,8	43,2	11,7	20,5
2h (26%)	28,9	36,1	2,7	16,6
2h (58%)	21,1	35,2	9,7	24,7
2i (24%)	26	38,6	8,9	16,2
2i (61%)	17,9	41,9	19,2	26,4

Tabelle 6-7 zeigt, dass für keines der auf partiell N-alkyliertem Poly(4-VP)-*co*-(VBP) beruhenden Kompositmaterialien eine quantitative Einlagerung von Silberbromid zu beobachten ist. Die Abweichungen zu den theoretischen Erwartungswerten liegen zwischen 27 wt.-% und 84 wt.-%. Dabei zeigt der VBP-Gehalt der Polymermatrices keinen Einfluss auf das Ausmaß der Abweichungen, wohl aber der N-Alkylierungsgrad. Ein Vergleich von Komposit *2h* (26%) mit *2h* (58%) und von *2i* (24%) mit *2i* (61%) zeigt für die auf Polymermatrices mit einem geringeren N-Alkylierungsgrad basierenden Komposite die höheren Abweichungen vom theoretisch erwarteten Silberbromid-Gehalt. Die konkreten Werte betragen für *2h* (26%) vs. *2h* (58%) 84 wt.-% respektive 64 wt.-% und für *2i* (24%) vs. *2i* (61%) 45 wt.-% respektive 27 wt.-%.

Die als thermovernetzbaren Polymermatrices eingesetzten Materialien stellen Copolymere aus 4-VP und DMMEP dar, bei deren N-Alkylierung neben Bromhexan auch Bromhexen eingesetzt wurde. Neben den Homopolymeren von hexyl-VP (Hexyl-PVP) und 4-VP (PVP) ist somit das Degradationsverhalten des Homopolymers von DMMEP (PDMMEP) von Interesse (Abbildung 6-13).



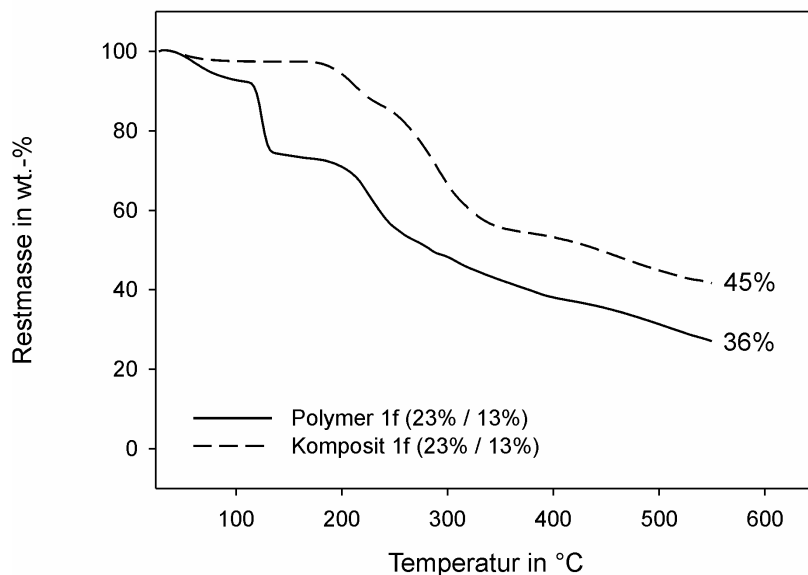
**Abbildung 6-13:** Zersetzungskurven der Homopolymere von 4-VP, hexyl-VP, DMMEP und der partiell N-alkylierten Copolymere von 4-VP und DMMEP

Dieses zeigt einen einstufigen Degradationsprozess mit einer Zersetzungstemperatur von 299 °C. Die mit Bromhexan und Bromhexen partiell N-alkylierten Copolymere zeigen nach initialem Lösungsmittel- und Wasserverlust alle einen zweistufigen Degradationsprozess. Dabei liegt der erste Degradationsprozess unterhalb der Zersetzungstemperaturen der betrachteten Homopolymere. Das ausschließlich mit Bromhexen umgesetzte Polymer *If* (--- / 43%) zeigt diesen ersten Degradationsprozess nicht. Diese Beobachtung lässt darauf schließen, dass der erste Degradationsprozess auf die N-Alkylierung mit Bromhexan zurückzuführen ist. Allerdings können weder Zersetzungstemperatur noch Masseverlust mit dem Grad der N-Alkylierung mit Bromhexan korreliert werden (Tab. 6-8). Der zweite Degradationsprozess ist dem Abbau von Segmenten statistischer Copolymere zuzuordnen.

**Tabelle 6-8:** Thermische Zersetzungstemperaturen der Degradationsstufen und Masseabnahmen von partiell N-alkylierten Copolymeren und entsprechenden Homopolymeren

Polymer	$T_{D1}$ in °C	$-m_1$ in wt.-%	$T_{D2}$ in °C	$-m_2$ in wt.-%
<i>PVP</i>	379	96,30		
<i>hexyl-PVP</i>	254	86,43		
<i>PDMMEP</i>	299	75,12		
1f (23% / 13%)	118	19,51	205	43,58
1f (16% / 24%)	115	31,18	201,5	21,87
1f (12% / 29%)	145	26,13	254	46,67
1f (--- / 43%)			245	62,9

Die Zersetzungskurven der Kompositmaterialien nach Umsetzung mit AgPTS zeigen im Wesentlichen einen mit dem jeweiligen Polymer vergleichbaren Verlauf wie in Abbildung 6-14 exemplarisch für Polymer / Komposit 1f (23% / 13%) dargestellt.



**Abbildung 6-14:** Vergleich der Zersetzungskurven von Kompositmaterial und Polymermatrix und Restmassen nach Korrektur um Lösungsmittel- und Wassergehalt

Neben einer durch das eingebettete, schwer flüchtige Silberbromid verursachten Verschiebung der Zersetzungskurve hin zu geringeren Masseverlusten ist das Wegfallen der ersten scharfen Masseabnahme für alle Komposite zu beobachten. Stattdessen findet nun eine dem Hauptdegradationsschritt vorgelagerte, sehr schwach ausgeprägte Masseabnahme statt (Tabelle 6-9). Lediglich für das Komposit, dessen Matrix ausschließlich mit Bromhexen N-alkyliert wurde, ist diese Masseabnahme nicht zu beobachten.

**Tabelle 6-9:** Thermische Zersetzungstemperaturen der Degradationsstufen und Massenabnahmen der Kompositmaterialien

Komposit	T <sub>D1</sub> in °C	-m <sub>1</sub> in wt.-%	T <sub>D2</sub> in °C	-m <sub>2</sub> in wt.-%
1f (23% / 13%)	188	10,97	263	37,45
1f (16% / 24%)	187	11,72	260	37,26
1f (12% / 29%)	231	14,69	329	38,53
1f (--- / 43%)			309	57,50

Dieses Verhalten unterstützt die bereits im Rahmen der Untersuchung der nicht vernetzbaren Polymere und Komposite gemachte Vermutung, dass die Stabilisierung der Silberbromid-Partikel die elektronischen Eigenschaften der polykationischen N-alkylierten Polymer-

segmente den Segmenten nicht N-alkylierten Vinylpyridins angleicht, was sich im Degradationsverhalten widerspiegelt. Dies wiederum unterstreicht die bezüglich des Degradationsverhaltens der Polymere gemachte Vermutung, dass die erste scharfe Masseabnahme der Polymere mit der N-Alkylierung mit Bromhexan in Verbindung steht.

Eine quantitative Bestimmung des eingelagerten Silberbromid-Gehalts erfolgt analog der Bestimmung für die nicht vernetzbaren Materialien durch Bildung der Differenz der Restmassen des Polymers und des Komposits. Die mittels Thermogravimetrie bestimmten Gehalte sowie die theoretischen Erwartungswerte sind Tabelle 6-10 zu entnehmen.

**Tabelle 6-10:** Restmassen von Polymer- und Kompositmaterialien nach thermischer Zersetzung und daraus ermittelter sowie theoretisch erwarteter Silberbromid-Gehalt

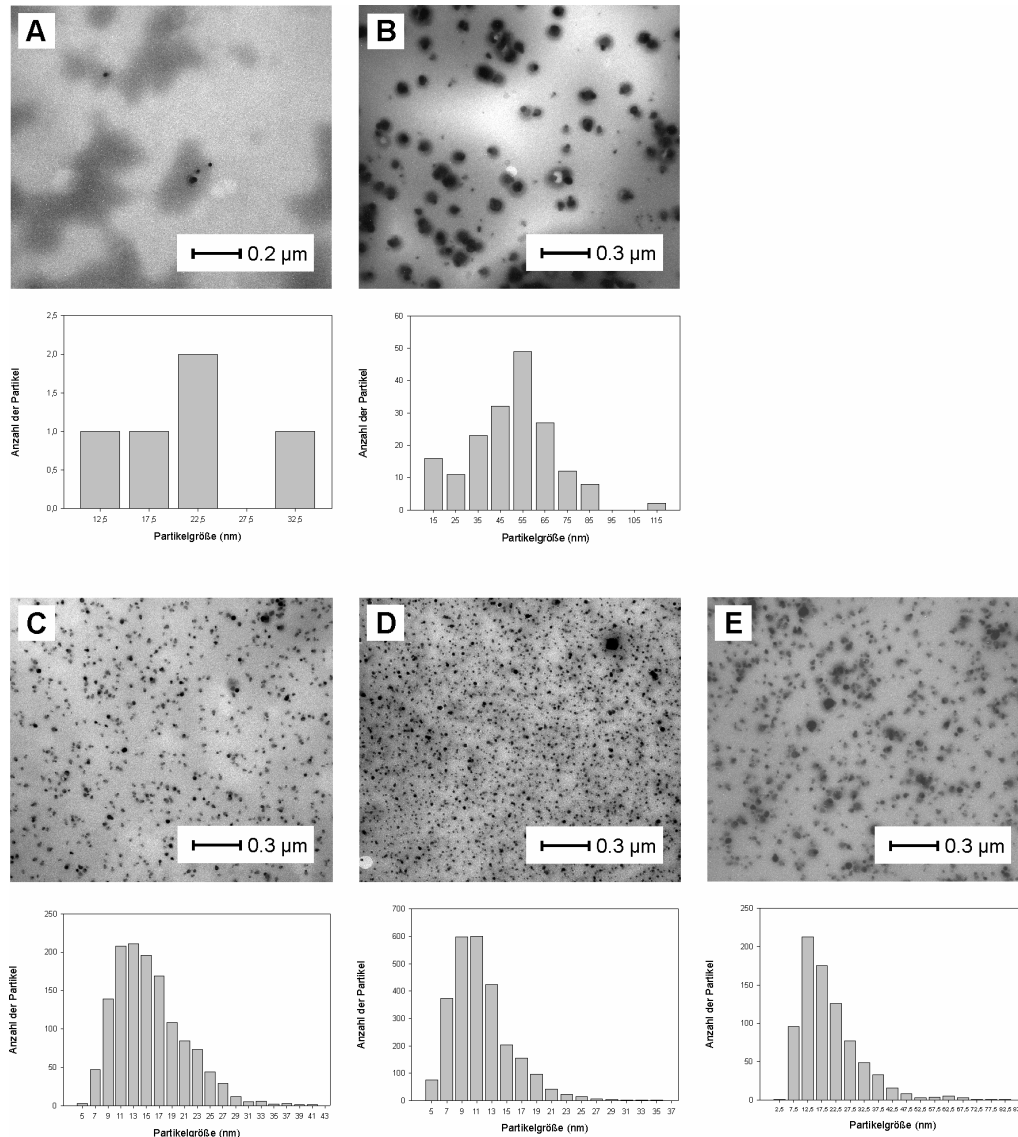
Probe	Restmasse in wt.-%		Silberbromidgehalt in wt.-%	
	Polymer	Komposit	TGA	theoretisch
1f (23% / 13%)	28,2	42,2	9,1	13,6
1f (16% / 24%)	24,1	42,7	16,6	15
1f (12% / 29%)	21,3	41,4	16,4	15
1f (--- / 43%)	28,0	38,2	10,2	14,9

Tabelle 6-10 zeigt insgesamt für die auf partiell mit Bromhexan und/oder Bromhexen N-alkyliertem Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) beruhenden Kompositmaterialien eine als quantitativ zu beschreibende Einlagerung von Silberbromid. Die Abweichungen zu den theoretischen Erwartungswerten reichen von minus 33 wt.-% bis zu plus 11 wt.-%. Dabei zeigt sowohl die Polymermatrix mit einem hohen Bromhexyl- (*1f* (23% / 13%)) als auch die Polymermatrix mit einem hohen Bromhexenyl-Gehalt (*1f* (--- / 43%)) einen Silberbromidgehalt unterhalb des Erwartungswerts. Polymermatrices mit mittleren Bromhexyl- und Bromhexenyl-Gehalten weisen hingegen Silberbromidgehalte oberhalb des theoretischen Erwartungswertes auf.

#### 6.4.1.3. Größe und Größenverteilung der eingelagerten Silberbromid-Partikel

Informationen bezüglich Form und Größe der in die Polymermatrices eingelagerten Silberbromid-Partikel wurden mittels TEM Messungen erhalten. Dabei konnte für alle Kompositmaterialien die Anwesenheit von in dem Polymer eingebetteten, sphärischen Nanopartikeln nachgewiesen werden. Generell stützt diese Beobachtung die Annahme, dass eine in-situ Ausfällung von Silberbromid unter Stabilisierung der wachsenden Partikel durch elektronische und sterische Eigenschaften des Polymers erfolgt. Nur so kann eine homogene

Verteilung der Partikel in der Polymermatrix und eine Vermeidung der Aggregation von Partikeln erklärt werden. Allerdings zeigen die untersuchten Kompositmaterialien untereinander doch deutliche Unterschiede bezüglich Partikelgröße, -anzahl und -verteilung (Abbildung 6-15 und 6-16).



**Abbildung 6-15:** TEM-Aufnahmen<sup>3</sup> und Partikelverteilungen der Kompositmaterialien. (A) 2i (24%), (B) 2h (26%), (C) 2i (61%), (D) 2h (58%), (E) 2g (51%)

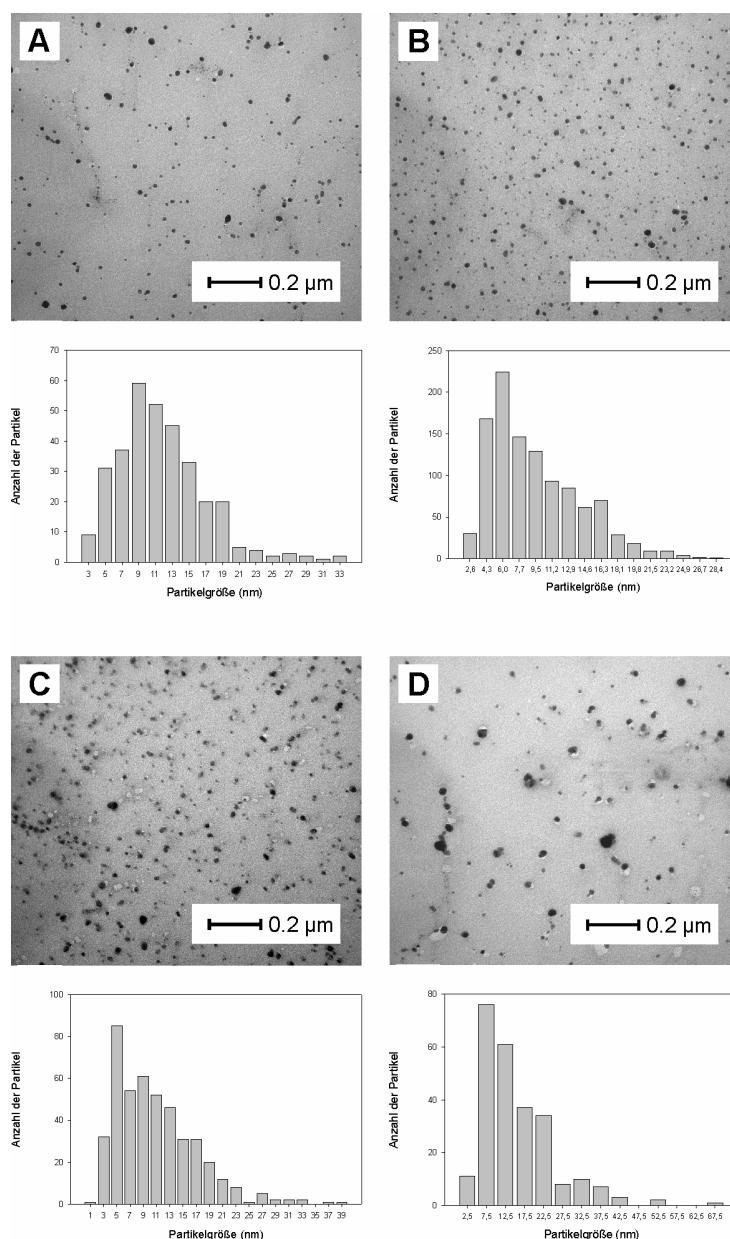
Bei den nicht vernetzbaren Kompositen reicht das Spektrum von hoher Partikelzahl im Größenbereich zwischen 9 und 17 nm für die Komposite *2i* (61%) und *2h* (58%) über das Auftreten deutlich weniger Partikel mit zunehmender Größe zwischen 15 und 85 nm für Komposit *2h* (26%) bis hin zu nur vereinzelt auftretenden Partikeln im Größenbereich von 12 bis 33 nm für Komposit *2i* (24%). Dabei haben sowohl der N-Alkylierungsgrad der

<sup>3</sup> TEM-Aufnahmen durchgeführt von Katrin Bleek, Universität Potsdam

Polymermatrix als auch die Zusammensetzung des Präpolymers Einfluss auf die Größe der eingelagerten Partikel. In der Theorie ist eine von SAMBHY et al. auch in der Praxis beobachtete Abnahme der Partikelgröße mit abnehmendem N-Alkylierungsgrad zu erwarten.<sup>[45]</sup> Dies kann auf einen höheren Anteil nicht N-alkylierten Vinylpyridins und damit freier Elektronenpaare zur Stabilisierung der Nanopartikel zurückgeführt werden. Für das im Rahmen dieser Arbeit entwickelte Kompositsystem hingegen wurde ein entgegengesetztes Verhalten beobachtet. Der Vergleich von Kompositen mit identischem VBP-Gehalt, aber unterschiedlichem N-Alkylierungsgrad (20 mol-% vs. 50 mol-%) zeigt eine deutliche Zunahme der Partikelzahl, aber eine deutliche Abnahme der Partikelgröße mit höherem N-Alkylierungsgrad. Komposite mit identischem N-Alkylierungsgrad, aber unterschiedlicher Zusammensetzung des Präpolymers zeigen jeweils Partikel vergleichbarer Größenordnung. Dabei resultiert eine Zunahme im VBP-Gehalt aber in einer Verengung der Verteilungskurve. Die beschriebenen Beobachtungen weisen insgesamt darauf hin, dass die Eigenschaften der eingelagerten Partikel nicht primär durch elektronische, sondern vielmehr durch sterische Effekte des Polymers bestimmt werden.

Die im Rahmen der TEM Untersuchungen von nicht vernetzbaren Kompositen beobachteten Zusammenhänge lassen bereits Rückschlüsse auf zu erwartende Beobachtungen bei der Untersuchung der vernetzbaren Komposite zu. Da alle vernetzbaren Komposite auf einem gemeinsamen Präpolymer beruhen und damit einen identischen DMMEP-Gehalt aufweisen, ist kein Einfluss der Polymermatrix auf die Verteilungskurve der eingelagerten Nanopartikel zu erwarten. Zudem besitzen alle vernetzbaren Komposite einen vergleichbaren Gesamtalkylierungsgrad, so dass dieser Parameter keine Auswirkungen auf Partikelzahl und -größe haben sollte.

In der Tat werden für die Komposite sehr ähnliche Größen und Verteilungskurven der eingelagerten Nanopartikel erhalten. Die Partikelgrößen bewegen sich hauptsächlich zwischen 3 und 19 nm, wobei lediglich Unterschiede in der Anzahl der Partikel beobachtet werden.



**Abbildung 6-16:** TEM-Aufnahmen<sup>4</sup> und Partikelverteilungen der Kompositmaterialien. (A) 1f (23% / 13%), (B) 1f (16% / 24%), (C) 1f (12% / 29%), (D) 1f (--- / 43%)

Die einzige Variable, welche im Fall der vernetzbaren Composite Einfluss auf die Partikel-einlagerung ausüben kann, stellt somit das Verhältnis von Bromhexen zu Bromhexan als Alkylierungsreagenz dar. Die ausschließliche Verwendung von Bromhexen im Fall von Komposit 1f (--- / 43%) resultiert in einem Auftreten größerer Partikel bzw. von Aggregaten in einer Größenordnung von über 30 nm. Diese Beobachtung wird jedoch nur bei alleinigem Einsatz von Bromhexen als Alkylierungsreagenz gemacht. Innerhalb der unterschiedlichen Composite ist keine lineare Abhängigkeit zwischen Partikelgröße und Anzahl ungesättigter Gruppen im Polymer herzustellen. Da die sterischen Effekte der Composite als identisch

<sup>4</sup> TEM-Aufnahmen durchgeführt von Katrin Bleek, Universität Potsdam

anzusehen sind, ist das Auftreten von größeren Partikeln bzw. Aggregaten bei Komposit *If* (--- / 43%) wahrscheinlich auf elektronische Effekte zurückzuführen.

#### 6.4.1.4. Ergebnisse der Synthese silberhaltiger Kompositmaterialien

EDX- und TEM-Untersuchungen haben gezeigt, dass von einer erfolgreichen Silber-einlagerung in partiell N-alkylierte Polymermatrices aus Poly(4-VP)-*co*-(VBP) und thermisch vernetzbare partiell N-alkylierte Polymermatrices aus Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) auszugehen ist. Die quantitative Untersuchung mittels TGA zeigte deutliche Unterschiede bezüglich der Silbereinlagerung zwischen den beiden Systemen. Ein Vergleich der theoretischen Erwartungswerte für die Menge eingelagerten Silberbromids mit den experimentell ermittelten für partiell N-alkylierte Matrices von Poly(4-VP)-*co*-(VBP) zeigte Abweichungen zwischen 27 wt.-% und 84 wt.-%. Das in-situ ausgefällte Silberbromid wird also in dem vorliegenden System nicht wie bei SAMBHY et al. für partiell N-alkyliertes PVP beschrieben quantitativ eingelagert. Dies kann in einem Verlust von Silberbromid in den an die Synthese angeschlossenen Umfällungsschritten begründet liegen oder in dem Polymersystem selbst. Das in dem Polymer enthaltene VBP ist im Vergleich zu Vinylpyridin nicht in der Lage, Silberbromid-Partikel durch elektronische Effekte zu stabilisieren. Durch den Einsatz von VBP erhält das Kompositmaterial also zwar das entscheidende Potential an Titanoberflächen zu binden, es lagert im Vergleich zu partiell N-alkyliertem PVP Silberbromid aber nicht mehr quantitativ ein.

Ein Vergleich der theoretischen Erwartungswerte für die Menge eingelagerten Silberbromids mit den experimentell ermittelten für thermisch vernetzbare partiell N-alkylierte Matrices aus Poly(4-VP)-*co*-(DMMEP) zeigt recht gute Übereinstimmung. Das in-situ ausgefällte Silberbromid wird in dem vorliegenden System quantitativ eingelagert. Sowohl bei dem vorliegenden System als auch bei dem nicht vernetzbaren Kompositmaterial, das Silberbromid nicht quantitativ einlagert, handelt es sich um Polymere, die neben Vinylpyridin auch ein Phosphonat im Rückgrad aufweisen. Die verwendeten Phosphonate sind im Gegensatz zu Vinylpyridin nicht in der Lage, Silberbromid-Partikel durch elektronische Effekte zu stabilisieren. Dass Silberbromid dennoch quantitativ in die vernetzbaren Polymere eingelagert wurde, kann auf die Verwendung von Bromhexen als N-Alkylierungsreagenz zurückgeführt werden. Hierdurch wurden ungesättigte Doppelbindungen in das Polymer eingeführt, die zu einer Stabilisierung von Silberbromid-Partikeln beitragen können. Insgesamt scheint das vernetzbare Kompositmaterial somit besser geeignet, um größere Mengen Silberbromid auf Titanoberflächen aufbringen zu können. Zum einen wird das Silberbromid quantitativ in die



Polymermatrix eingelagert und zum anderen ist zu erwarten, dass die Komposite nach Aufbringung auf Titan und anschließender Vernetzung höhere Schichtdicken als nicht vernetzbare Materialien ausbilden. Es bleibt aber zu prüfen, ob die Einbringung einer vernetzbaren Gruppe durch N-Alkylierung und damit die Reduzierung antimikrobiell wirksamerer Hexyl-N-vinylpyridinium-Gruppen zu einem Verlust der kontaktbakteriziden Eigenschaften des Polymers führen.



## 7. Polymeranbindung

In Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung der in Kapitel 6.2. bis 6.4. beschriebenen Polymer- und Kompositmaterialien werden für eine kovalente Anbindung an Titanoberflächen zwei unterschiedliche Strategien gewählt. Potentiell oberflächenaktive Materialien basierend auf phosphonsäureesterhaltigen Homo- oder Copolymeren sollen im Rahmen eines einfachen Spin Coating-Prozesses direkt an Titanoberflächen angebunden werden. Das keine oberflächenaktive Gruppen tragende hexyl-PVP hingegen soll über die von GRIEP-RAMING et al. entwickelte Methode des photochemischen „Grafting onto“ (Kapitel 3.2.) immobilisiert werden. Eine Bestätigung der Polymeranbindung und Charakterisierung der resultierenden Filme erfolgt durch die Untersuchung der Oberflächenbenetzbarkeit im Rahmen von Kontaktwinkelmessungen und die Bestimmung der Schichtdicke mittels Ellipsometrie. Eine eingehendere Charakterisierung bezüglich chemischer Identität der immobilisierten Moleküle erfolgt an ausgewählten Systemen mittels Röntgen-Photoelektronen-Spektroskopie (XPS).

Für alle angewandten oberflächenanalytischen Verfahren werden gereinigte, unbeschichtete Titansubstrate als Referenzproben eingesetzt. Kontaktwinkelbestimmungen dieser Substrate direkt nach Polieren und Waschen zeigen Werte von  $\theta_{\text{adv}} = 33^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 22^\circ$ . Gealterte Titansubstrate weisen eine Verschiebung der Kontaktwinkel zu  $\theta_{\text{adv}} = 84^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 64^\circ$  auf. In Hinblick auf XPS-Untersuchungen ist bekannt, dass Titanoberflächen an der Atmosphäre spontan eine Oxidschicht von 3-6 nm ausbilden.<sup>[25]</sup> Aus diesem Grund werden bei der Untersuchung der Referenzproben die Elemente Ti und O auf polierten Titansubstraten erwartet. Unter der Annahme, dass Titan hauptsächlich als  $\text{Ti}^{\text{IV}}$  in der Oxidschicht vorliegt,<sup>[25]</sup> ist aus Tabelle 7-7 eine Diskrepanz zwischen gemessenem (3:1) und erwartetem (2:1) Verhältnis von Sauerstoff zu Titan zu entnehmen. Mögliche Ursachen für diese Diskrepanz sind in der Adsorption von atmosphärischem Sauerstoff und Wasser an der Oberfläche von oxidiertem Titan zu sehen.<sup>[25]</sup> Neben Titan und Sauerstoff aus der nativen Titanoxidschicht wurden weiterhin Kohlenstoff und Stickstoff detektiert, die aus Spuren von organischen Verunreinigungen stammen.<sup>[25,26]</sup> Das Ausmaß dieser Verunreinigungen bewegt sich aber in Größenordnungen, die keine Beeinflussung der Oberflächenmodifizierung erwarten lassen.

### 7.1. Photochemische Anbindung

Generell erfolgt die Anbindung eines Polymers über photochemisches „Grafting onto“ in zwei Schritten. Der erste Schritt umfasst die Ausbildung einer Monoschicht einer photochemisch

aktiven Verbindung auf der Substratoberfläche. Im zweiten Schritt wird das anzubindende Polymer mittels Spin Coating oder Tauchprozessen zunächst über Physisorption an die Oberfläche gebunden. UV-Belichtung sorgt schließlich für eine photochemische und damit kovalente Anbindung.

PRUCKER et al. verwendeten bei der von ihnen entwickelten Methode des photochemischen „Grafting onto“ 4-(3'-Chlorodimethylsilyl)propyloxybenzophenon als photoreaktives Derivat.<sup>[31]</sup> Aufgrund der oberflächenaktiven Silangruppe und der photoreaktiven Benzophenoneinheit ist das Molekül in der Lage, an Silizium(oxid)oberflächen zu binden und in anschließender photochemischer Reaktion die kovalente Anbindung ultradünner Polymerschichten zu vermitteln. Die von dem Benzophenonderivat ausgebildeten Monoschichten wiesen dabei Schichtdicken von ~ 1 nm auf und standen in Einklang mit der Länge des Ankermoleküls bei einer all-trans Anordnung unter Annahme idealer Bindungswinkel und Standardbindungsängen. Basierend auf dem von PRUCKER et al. entwickeltem Verfahren sind in der Literatur diverse Beispiele von Polymeren zu finden, die erfolgreich auf Glas und Silizium in Form von ultradünnen Filmen immobilisiert werden konnten. Von besonderem Interesse für die im Rahmen der vorliegenden Arbeit angestrebte Anbindung von hexyl-PVP ist dabei die Anbindung des Präpolymers PVP durch ADDEN et al.<sup>[17]</sup> Es wird von Polymerfilmen mit einer Schichtdicke von 3,2 nm und Kontaktwinkeln der entsprechenden Oberflächen von  $\theta_{\text{adv}} = 56^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 30^\circ$  berichtet. Neben der Anbindung von PVP ist weiterhin die Anbindung von ebenfalls auf einem aromatischen Ringsystem beruhendem Polystyrol von Interesse. ADDEN et al. berichten für dieses Polymer Schichtdicken von 2,8 nm.<sup>[17]</sup> PRUCKER et al. erreichten in Abhängigkeit von Belichtungsdauer und Molekulargewicht des eingesetzten Polystyrols eine maximale Schichtdicke von 5 nm.<sup>[31]</sup>

GRIEP-RAMING et al. übertrugen die von PRUCKER et al. für die Beschichtung von Glas und Silizium entwickelte Methode auf die Anbindung von Polymerfilmen an Titanoberflächen.<sup>[10]</sup> Dabei setzten sie als photoreaktives Ankermolekül anstelle von 4-(3'-Chlorodimethylsilyl)propyloxybenzophenon das entsprechende Phosphonsäurederivat 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure ein. Oberflächenanalytische Untersuchungen bestätigten die Ausbildung von Monoschichten durch 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure, wobei die Schichtdicke bei  $0,8 \pm 0,1$  nm lag. Infolge der Anbindung des Benzophenonderivats wurde außerdem eine Änderung der Kontaktwinkel von  $\theta_{\text{adv}} = 40^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 18^\circ$  direkt nach Polieren und Waschen der Titansubstrate auf  $\theta_{\text{adv}} = 70^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 36^\circ$  für die Monoschicht beobachtet. Allerdings wiesen auch unbeschichtete, gealterte Titansubstrate eine Verschiebung der Kontaktwinkel zu  $\theta_{\text{adv}} = 75^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 42^\circ$  auf. Aus diesem Grund ist die Kontaktwinkel-

änderung nicht signifikant für eine erfolgreiche Anbindung des Benzophenonderivats. Deutliche Bestätigung einer erfolgreichen Anbindung lieferte der Vergleich der FTIR-Spektren von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure in Substanz mit der Monoschicht auf Titan. Die wesentlichen Banden des Ankermoleküls traten auch in dem Spektrum der Oberfläche auf. Anzumerken ist aber auch für die Vermittlung der Anbindung von Polystyrol unterschiedlicher Molekulargewichte durch 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure, dass eine Zunahme des Molekulargewichts wie von PRUCKER et al. für 4-(3'-Chlorodimethylsilyl)propyloxybenzophenon beschrieben in einem Anstieg der Schichtdicke resultiert. Allerdings lagen die beobachteten Schichtdicken mit maximalen Werten von  $\sim 5$  nm insgesamt unter den über den Gyrationradius berechneten Erwartungswerten.<sup>[31]</sup>

Im Rahmen vorangegangener Arbeit<sup>[62]</sup> wurde die Anbindung von Poly(vinylpyridin-*co*-hydroxyethylmethacrylat) an Titan über die von GRIEP-RAMING et al. entwickelte Methode untersucht. Dabei ergaben sich für den Schritt der Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure deutlich von der Literatur abweichende Ergebnisse. Es wurden Schichtdicken von  $3,8 \pm 0,7$  nm anstelle von  $0,8$  nm<sup>[10]</sup> erhalten. Kontaktwinkelmessungen ergaben Werte von  $\theta_{\text{adv}} = 76 \pm 3^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 64 \pm 3^\circ$ , die sowohl auf eine Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure als auch auf den Alterungsprozess von Titan zurückgeführt werden können. Lediglich die Untersuchung der Substratoberfläche mittels IR-Spektroskopie bestätigte eine erfolgreiche Anbindung. Das Spektrum der Oberfläche der Titanfolie nach Aufbringung der Monoschicht zeigte drei für 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure signifikante Peaks. Diese waren die C=O - Valenzschwingung der im Benzophenon enthaltenen Carbonylgruppe bei  $1626 \text{ cm}^{-1}$ , die C=C - Streckschwingungen der aromatischen Kohlenstoffatome bei  $1616 \text{ cm}^{-1}$  und die C-O - Valenzschwingung des Alkyl-Aryl Ethers bei  $1258 \text{ cm}^{-1}$ .

Erste Untersuchungen zur Anbindung von hexyl-PVP im Rahmen dieser Arbeit bestätigen die bei der Anbindung von Poly(vinylpyridin-*co*-hydroxyethylmethacrylat) erhaltenen Ergebnisse. Es wurden mit  $6,1 \pm 0,6$  nm nochmals erhöhte Schichtdicken für die Monoschicht erhalten. Weiterhin konnte nach dem Schritt der photochemischen Anbindung von hexyl-PVP keine Zunahme der Schichtdicke beobachtet werden. Mögliche Ursache für das beschriebene Verhalten kann zum einen das Eintreten von Vernetzungsreaktionen innerhalb des verwendeten Benzophenonderivats während der Lagerung darstellen. Dies erklärt sowohl erhöhte Schichtdicken des Ankermoleküls als auch eine verminderte Polymeranbindung durch

den Verlust von Photoaktivität. Weitere Ursachen können aber auch präparative und analytische Probleme des Beschichtungsvorgangs darstellen. Aufgrund dieser Überlegungen werden in der vorliegenden Arbeit beide Schritte des photochemischen „Grafting onto“-Prozesses für die Anbindung von hexyl-PVP eingehend untersucht.

#### **7.1.1. Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure**

Die Immobilisierung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure auf Titanoberflächen erfolgt in einer modifizierten Form nach SCHWARTZ et al.<sup>[28]</sup> Dabei wird die Alkylphosphonsäure nicht durch wiederholte Sprühauftragung auf die Titanoberfläche aufgebracht, sondern durch Eintauchen des Substrats in eine 0,105 mmolare Lösung des Anker-moleküls in THF und Warten bis durch Verdampfen des Lösungsmittels ein Niveau unterhalb der Titanfolie erreicht ist. Die Anbindung der Monoschicht wird analog zu SCHWARTZ et al. durch Tempern der Substrate bei 120°C über 48 Stunden unterstützt.

Neben der Verwendung frisch hergestellter 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure zum Ausschließen von Vernetzungsreaktionen wurde das Lösungsmittel variiert und bei jeder Testreihe eine gleiche Anzahl von Referenzproben verwendet. Die Verwendung von Methanol anstelle von THF als Lösungsmittel hat den Hintergrund, dass nach dem Schritt der Polymeranbindung zur Entfernung nicht angebondenen Materials eine Soxhlet-Extraktion mit Methanol erfolgt. Sollte 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure in Methanol eine bessere Löslichkeit zeigen als in THF, könnte der Waschprozess nach der Polymeranbindung auch einen Schichtdickenverlust in dem Monolayer zur Folge haben. Die verwendeten Referenzproben durchlaufen parallel zu den eigentlichen Substraten ohne Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure die entsprechenden Stufen des Beschichtungsprozesses.

##### **7.1.1.1. Ergebnisse der Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure**

Der Einfluss der untersuchten Parameter auf Schichtdicke und Kontaktwinkel der jeweiligen Substrate sind in Tabelle 7-1 dargestellt. Der Vergleich zwischen der Verwendung frisch hergestellten Ankers (Testreihe B) und über einen längeren Zeitraum gelagerten Ankers (Testreihe A) zeigt keine signifikante Reduzierung der Schichtdicken für den frisch hergestellten Anker. Somit können Vernetzungsreaktionen innerhalb des Benzophenon-derivats während der Lagerung als Ursache der erhöhten Schichtdicken ausgeschlossen werden. Auch die Verwendung von Methanol als Lösungsmittel für den Tauchprozess (Testreihe D) führt nicht zu dem gewünschten Erfolg. Im Vergleich zu der

Verwendung frisch hergestellten Ankers in THF (Testreihe B) wird sogar eine leichte Erhöhung der Schichtdicke beobachtet.

**Tabelle 7-1:** Einfluss ausgesuchter Parameter auf die Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

Testreihe	Bedingungen	Schichtdicke in nm	Kontaktwinkel in °	
			advancing	receding
<b>A</b>	THF, gelagerter Anker	$6,1 \pm 0,6$	$69 \pm 1$	$47 \pm 3$
<b>B</b>	THF, frischer Anker	$4,9 \pm 0,4$	$71 \pm 1$	$52 \pm 1$
<b>C</b>	THF, Referenz	$3,0 \pm 0,3$	$92 \pm 3$	$69 \pm 2$
<b>D</b>	MeOH, frischer Anker	$5,7 \pm 0,4$	n.b.	n.b.
<b>E</b>	MeOH, Referenz	$3,5 \pm 0,1$	n.b.	n.b.

Einen Anhaltspunkt für die Ursache der erhöhten Schichtdicken liefern die Untersuchungen der Referenzproben (Testreihe C und E). Hier werden Schichtdicken von  $3,0 \pm 0,3$  nm bzw.  $3,5 \pm 0,1$  nm gemessen und ein Kontaktwinkel von  $\theta_{adv} = 92 \pm 3^\circ$  und  $\theta_{rec} = 69 \pm 2^\circ$ . Diese Daten deuten auf die Ausbildung einer Oxidschicht bzw. Veränderungen in der nativen Oxidschicht von Titan im Rahmen des Temperprozesses hin, wodurch eine korrekte Bestimmung der Schichtdicke der Monoschicht nicht möglich ist. In der Literatur beschriebene Ergebnisse der Untersuchungen von Oxidschichten auf Titan und Titanlegierungen unterstützen diese Annahme. LEWIS et al. postulierten im Rahmen der Untersuchung von der an Luft gebildeten Oxidschicht auf Ti90/Al6/V4 eine Zusammensetzung der Oxidschicht aus  $Ti_7AlO_{14}$  und beobachteten eine Schichtdicke von  $\sim 1,5$  nm.<sup>[117]</sup> Diese Aussagen stimmen mit den von ASK et al. gefundenen Ergebnissen bei der Untersuchung der nativen Oxidschicht auf mechanisch polierten Ti90/Al6/V4 Substraten überein. Auch ASK et al. identifizierten  $TiO_2$  als wesentlichen Bestandteil der Oxidschicht, wobei auch geringe Anteile der Suboxide  $Ti_2O_3$  und  $TiO$  gefunden wurden. Die Schichtdicke der nativen Oxidschicht beträgt nach ASK et al. allerdings 3-4 nm.<sup>[118]</sup> Mit der thermischen Oxidation der Oberfläche von Titansubstraten in Abhängigkeit der Temperatur beschäftigten sich RADEGRAN et al.<sup>[119]</sup> Dabei führte die Lagerung der Proben bei 120°C über eine Stunde zu der Ausbildung einer amorphen und homogenen Oxidschicht von 6-7 nm Schichtdicke, also zu deutlich höheren Werten als bei Raumtemperatur beobachtet.

Bestätigt wird die Annahme der Erhöhung der nativen Oxidschicht im Rahmen der Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure durch eine gezielte Untersuchung der Auswirkungen des Temperprozesses auf die Substratoberfläche.

Tabelle 7-2 zeigt, dass der alleinige Temperprozess (Testreihe G) zu der Ausbildung von Schichten von  $3,0 \pm 0,8$  nm auf den Substraten führt. Die Verwendung dieser vorgetemperten Substrate für die Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure resultiert in einer Schichtdicke von  $1,5 \pm 0,4$  nm für die Monoschicht. Dieser Wert ist in Anbetracht der Messgrenzen der Ellipsometrie mit den in der Literatur berichteten Werten vereinbar und spricht für die Ausbildung einer Monoschicht von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure. Die Verwendung vorgetemperter Substrate mit einer Oxidschicht bekannter Schichtdicke ist für die korrekte Bestimmung der Monoschicht Voraussetzung. Die alleinige Korrektur der Schichtdicken um den Wert der auf Referenzproben beobachteten Oxidschicht ohne diese konkret zu bestimmen (Testreihe H), bewirkt eine Verschiebung der Monoschicht zu leicht erhöhten Werten.

**Tabelle 7-2:** Einfluss des Temperprozesses auf Titanoberflächen und auf die Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

Testreihe	Substrat	Oxidschicht in nm	Monoschicht in nm	Monoschicht aus Berechnung in nm
<b>G</b>	Titan getempert	$3,0 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,4$	----
<b>H</b>	Titan	----	$5,3 \pm 0,8$	2,3

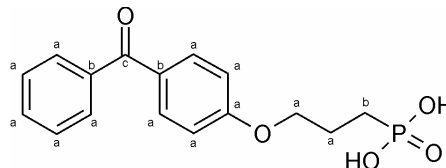
Eine Bestätigung der erfolgreichen Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure erfolgt über XPS. Die Ergebnisse der Untersuchungen der chemischen Identität der Substratoberfläche nach Anbindung des Ankermoleküls sind in Tabelle 7-4 dargestellt. Im Vergleich zu unbeschichteten Titanoberflächen ist ein signifikanter Anstieg des Kohlenstoffsignals zu beobachten. Weiterhin wurde neben den auf der unbeschichteten Referenzprobe detektierten Elementen als zusätzliches Element Phosphor beobachtet, was die Anwesenheit der Phosphonsäure auf den modifizierten Titansubstraten bestätigt. Die von Titan und Titanoxid stammenden Signale werden auch nach Anbindung des Ankermoleküls detektiert, sind aber weniger stark ausgeprägt. Dies ist ein Indiz für die Ausbildung einer ultradünnen Schicht auf dem Titansubstrat und spricht ebenfalls für eine erfolgreiche Anbindung des Ankermoleküls. Insgesamt liegen die um aus Titanoxidschicht und aus Verunreinigungen stammenden Sauerstoff sowie um aus Verunreinigungen stammenden Kohlenstoff korrigierten atomaren Konzentrationen für Kohlenstoff um 22 % über und für Sauerstoff um 78 % unter dem Erwartungswert bezogen auf das Benzophenonderivat in Substanz. Der für Phosphor bestimmte Wert von  $5,2 \pm 0,2$  % stimmt gut mit dem Erwartungswert von 4,5 % überein. Die beobachteten Abweichungen für Kohlenstoff und Sauerstoff sind auf Veränderungen in der Oxidschicht und Verdrängung von an der



Oberfläche gebundenem Wasser sowie auf Verdrängung von kohlenstoffhaltigen Verunreinigungen infolge der Ankeranbindung zurückzuführen. Es können daher anhand der Übersichtsspektren keine stöchiometrischen Aussagen bezüglich des angebundenen Anker-moleküls getroffen werden.

Zusätzliche Informationen über die chemische Zusammensetzung der beschichteten Substrate bietet die Betrachtung hochauflösender Kohlenstoffspektren (Kapitel 2.5.3.4.). Bindungs-energien, die durch das Heranziehen der entsprechenden Subpeaks aus dem Fitting der Haupt-peaks hervorgegangen sind, sowie ihre Zuordnung sind in Tabelle 7-3 aufgeführt.

**Tabelle 7-3:** relative Konzentrationen der Peaks in hochauflösenden XPS C 1s-Spektren von 3-(4-Oxybenzo-phenon)propylphosphonsäure auf Titan

Probe	XPS C 1s Peak Konzentrationen in %			
	a (285 eV)	b (286,29 eV)	c (287,36 eV)	
A1	75,5	16,1	8,4	
A2	65,5	24,0	10,4	
Theorie	72,7	22,7	4,6	

Für unbeschichtete Substrate wurde das hochauflösende Spektrum von Kohlenstoff durch drei Subpeaks gefittet, die entsprechend der Literatur zugeordnet wurden.<sup>[120]</sup> Der Hauptpeak bei 285 eV entspricht Kohlenstoffspezies mit gesättigten Bindungen zu anderen Kohlenstoff- und Wasserstoffatomen (C-H, C-C). Der zweite Peak bei 286,5 eV ist Kohlenstoffspezies in Ethergruppen (C-O-C) sowie Kohlenstoffspezies mit einer benachbarten Hydroxylgruppe (C-OH) zuzuordnen. Der dritte Peak bei 288,64 eV entspricht Kohlenstoffatomen in Estergruppen (COOR). Die relativen Intensitäten betragen 65,3 : 20,5 : 14,2 (%). Nach Anbindung des Benzophenonderivats zeigen die Spektren neben dem Hauptpeak bei 285 eV weiterhin zwei zusätzliche Peaks bei höheren Bindungsenergien. Diese sind im Vergleich zu den Peaks des unbeschichteten Substrats aber leicht verschoben und lassen daher auf andere Kohlenstoffspezies schließen. Der Hauptpeak beruht auf den Kohlenwasserstoffgruppen und den Phenylringen im Anker-molekül. Der zweite Peak bei 286,29 eV wird der P-C-Gruppe im Anker-molekül und den der Carbonylgruppe in der Benzophenoneinheit benachbarten,  $\beta$ -verschobenen Kohlenstoffen zugeordnet. Bindungsenergien für P-C-Gruppen werden in der Literatur mit 286,4 eV<sup>[29]</sup> und Bindungsenergien für  $\beta$ -verschobene Kohlenstoffatome mit 285,7 eV<sup>[121]</sup> beschrieben. Es ist zu beachten, dass sich hinter dem Peak neben P-C-Gruppen und  $\beta$ -verschobenen Kohlenstoffen auch Kohlenstoffspezies in Ethergruppen in Form von

Verunreinigungen verbergen können. Der dritte Peak bei 287,35 eV steht in Übereinstimmung mit dem in der Literatur beschriebenen Wert für Carbonylgruppen<sup>[122]</sup> und kann daher eindeutig der Benzophenoneinheit zugeordnet werden. Auch hier ist eine Überlagerung durch Verunreinigungen, und zwar durch esterhaltige Verbindungen möglich. Auf den untersuchten Proben variieren die relativen Intensitäten der beschriebenen Kohlenstoffspezies wie in Tabelle 7-3 dargestellt. Insgesamt bewegen sich die Peakverteilungen in dem für den Benzophenonanker erwarteten Bereich. Die beobachtete Streuung der Werte kann auf die mögliche Überlagerung der Signale vom Benzophenonanker mit Verunreinigungen auf der Substratoberfläche zurückgeführt werden. Insgesamt kann anhand der XPS Daten aus den Übersichtsspektren und den hochauflösenden Spektren von einer erfolgreichen Anbindung des Ankermoleküls ausgegangen werden.

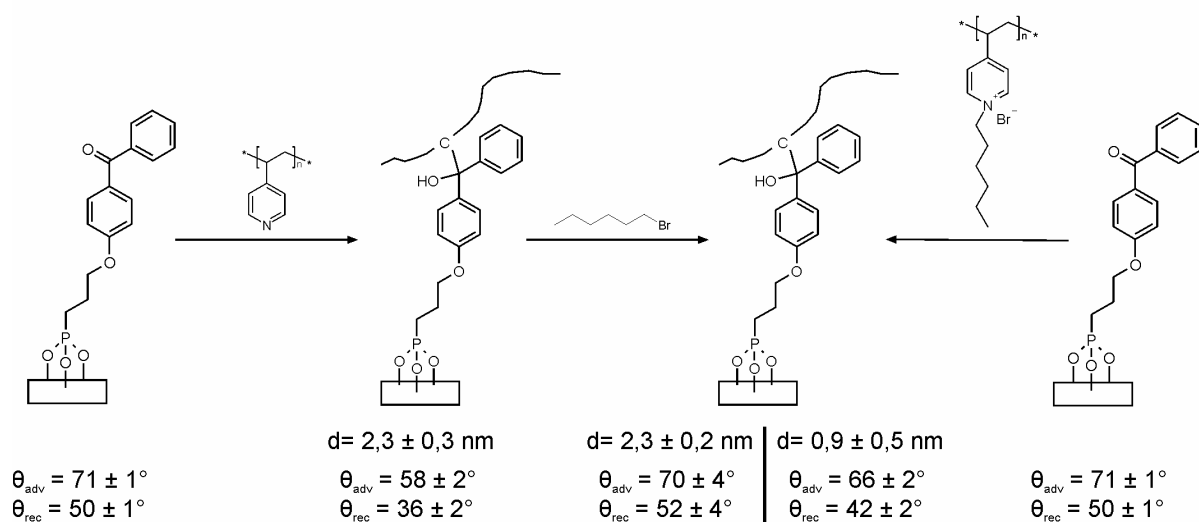
#### **7.1.2. Anbindung von Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid)**

Die Anbindung von hexyl-PVP an mit 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure beschichtete Titansubstrate erfolgt nach Aufbringung durch Spin Coating photochemisch durch 35 minütige Bestrahlung mit UV- Licht. Diese Zeitspanne stellt nach RÜHE et al. sicher, dass die Schichtdicke nur durch das Molekulargewicht des Polymers bestimmt wird.<sup>[21]</sup> Die restlose Entfernung nicht angebondenen Polymers von der Substratoberfläche erfolgt durch Soxhlet-Extraktion für 18 Stunden mit Methanol.

Unter Verwendung des klassischen Anbindungswegs und Auswertung der ellipsometrischen Messungen unter Annahme eines Einschichtmodels wurde nach dem Schritt der Polymeranbindung eine geringere Gesamtschichtdicke erzielt als bereits die Monoschicht von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure ausgemacht hat. Aus diesem Grund werden die Erkenntnisse aus den Untersuchungen zur Anbindung des Ankermoleküls auf die Polymeranbindung übertragen und ausschließlich vorgetemperte Substrate verwendet. Weiterhin wird neben dem Einschichtmodel auch ein Zweischichtmodel in der Ellipsometrie verwendet, bei dem Mono- und Polymerschicht unter Berücksichtigung ihrer entsprechenden Kennwerte als getrennte Schichten behandelt werden. Liegt die nicht nachweisbare Anbindung von hexyl-PVP nicht in präparativen oder analytischen Ursachen begründet, sondern in den Wechselwirkungen zwischen Benzophenonschicht und Polymer, so können diese durch die Anbindung des Präpolymers PVP und anschließender N-Alkylierung an der Substratoberfläche eventuell umgangen werden. Daher wird auch dieser Anbindungsweg beschritten und mit der direkten Anbindung von hexyl-PVP verglichen.

### 7.1.2.1. Ergebnisse der Anbindung von Poly(4-vinyl-N-hexylpyridiniumbromid)

Die Anbindung von hexyl-PVP resultiert unter Verwendung des Einschichtmodells in Schichtdicken im negativen Bereich bzw. in Nullwerten. Die Verwendung eines Zweischichtmodells ergibt eine Schichtdicke von  $0,9 \pm 0,5$  nm. Aufgrund des geringen Wertes und mit der Monoschicht vergleichbaren Kontaktwinkeln von  $\theta_{\text{adv}} = 66 \pm 2^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 42 \pm 2^\circ$  kann eine erfolgreiche Anbindung von hexyl-PVP weder bestätigt noch ausgeschlossen werden. Durch die Anbindung von PVP mit anschließender N-Alkylierungsreaktion an der Substratoberfläche werden im Vergleich zur direkten Anbindung von hexyl-PVP leicht erhöhte Schichtdicken von  $2,3 \pm 0,2$  nm erhalten. Ein weiteres Indiz für eine erfolgreiche Polymeranbindung stellt die Betrachtung der Kontaktwinkeländerungen der einzelnen Reaktionsschritte dar (Abbildung 7-1). Weist die Monoschicht von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure einen Kontaktwinkel von  $\theta_{\text{adv}} = 71 \pm 1^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 50 \pm 1^\circ$  auf, so führt die Anbindung von PVP zu einer deutlichen und mit den von ADDEN et al.<sup>[17]</sup> erhaltenen Werten übereinstimmenden Abnahme auf Werte von  $\theta_{\text{adv}} = 58 \pm 2^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 36 \pm 2^\circ$ . Die N-Alkylierung des gebundenen Polymers bedingt durch Einführung hydrophober Hexylketten einen erneuten Anstieg des Kontaktwinkels auf  $\theta_{\text{adv}} = 70 \pm 4^\circ$  und  $\theta_{\text{rec}} = 52 \pm 4^\circ$ . Insgesamt lassen diese Beobachtungen auf eine erfolgreiche Anbindung von hexyl-PVP über den Weg der Anbindung von PVP schließen.



**Abbildung 7-1:** direkte Anbindung von hexyl-PVP und Anbindung über das Präpolymer PVP

Neben Kontaktwinkel- und Schichtdickenbestimmung stellt der Vergleich von XPS-Spektren vor und nach dem photochemischen Anbindungsprozess eine gute Möglichkeit dar, um den Erfolg der Polymeranbindung zu beurteilen. Allerdings können anhand von XPS-Messungen keine quantitativen Aussagen über die elementare Zusammensetzung der Polymerschicht getroffen werden. Grund ist das Vorliegen eines Zweifilmsystems bestehend aus self-

assembled Monolayer (SAM) des Benzophenonankers und daran gebundener Polymerschicht. Analog der Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure werden Übersichts- und hochauflösende Spektren für die Beurteilung der Polymeranbindung herangezogen. Übersichtsspektren von in einem Schritt angebundenem hexyl-PVP (Tabelle 7-4) zeigen für das Titansignal des unterliegenden Substrats innerhalb des Fehlerbereichs keine signifikante Abnahme. Dieser Befund spricht gegen eine erfolgreiche Polymeranbindung und korreliert mit der im Rahmen von Ellipsometriemessungen nur geringen bzw. gar nicht gefundenen Schichtdickenzunahme. Weiterhin zeigen die XPS-Spektren keine signifikanten Änderungen in den Intensitäten von Kohlenstoff- und Sauerstoffpeak. Das Phosphorsignal zeigt eine geringe Abnahme, die bei erfolgreicher Polymeranbindung auf eine Orientierung der Phosphorgruppen an die Titan/Monoschicht-Grenzfläche zurückgeführt werden kann. Diese Orientierung ermöglicht eine Reduktion der Oberflächenenergie und eine Maximierung der Bindung zwischen Titan und Monoschicht. In diesem Zustand würde das Phosphor-Signal im XPS durch die überliegende Polymerschicht abgeschwächt werden.<sup>[20]</sup> Im Vergleich zu den nicht signifikanten Änderungen von Titan-, Kohlenstoff-, Sauerstoff- und Phosphorsignal ist das zusätzliche Auftreten von Stickstoff und Brom trotz nicht beobachteter Schichtdickenzunahme ein eindeutiger Hinweis auf eine erfolgreiche Anbindung von hexyl-PVP.

**Tabelle 7-4:** elementare Zusammensetzungen von SAMs, Polymerfilmen und polierten Titansubstraten nach XPS

Probe	atomare Konzentration in %					
	Ti 2p	O 1s	C 1s	P 2p	N 1s	Br 3d
<i>Substrat</i>	18,4 ± 0,3	54,4 ± 0,2	26,5 ± 0,5	-----	0,7 ± 0,1	-----
3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonat	12,7 ± 0,3	39,1 ± 0,7	46,2 ± 1,1	1,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1	-----
Hexyl-PVP	11,9 ± 1,6	38,4 ± 3,6	46,5 ± 5,0	1,2 ± 0,1	1,7 ± 0,3	0,3 ± 0,1
PVP	10,0 ± 0,4	34,2 ± 1,1	51,3 ± 1,5	1,4 ± 0,2	3,1 ± 0,4	-----
Hexyl-PVP über PVP	8,6 ± 0,0	26,7 ± 1,1	56,9 ± 1,1	0,9 ± 0,1	3,8 ± 0,2	0,2 ± 0,0

Charakteristischer als bei der einstufigen Anbindung von hexyl-PVP sind die bei Anbindung über die Vorstufe von PVP beobachteten Änderungen in den XPS-Spektren. Die Anbindung von PVP führt zu einer deutlichen Abnahme des Titansignals und bestätigt somit die ellipsometrisch gefundene Schichtdickenzunahme. Auch das für die Anbindung der Pyridingruppen signifikante Auftreten eines N 1s-Signals ist bei der Anbindung von PVP deutlich

stärker ausgeprägt. Diese Beobachtungen kombiniert mit den für PVP beobachteten deutlich geringeren Standardabweichungen in allen charakteristischen XPS-Signalen, deuten auf eine verbesserte Anbindung von PVP im Vergleich zu hexyl-PVP hin. Die anschließende N-Alkylierung von PVP an der Substratoberfläche resultiert in den XPS-Spektren in einer weiteren Abnahme des Titansignals, was aber nicht mit den ellipsometrischen Daten vereinbart werden kann. Hier wurde keine Zunahme der Schichtdicke beobachtet. Charakteristisch für eine erfolgreiche Oberflächenreaktion aber ist die Zunahme der Intensität des C 1s-Peaks infolge der Einführung von Kohlenstoff durch die Alkylkette sowie das Auftreten von Brom als Gegenion zum N-alkylierten Pyridinium.

Sprechen die Informationen aus den Übersichtsspektren nur bedingt für eine erfolgreiche Immobilisierung von hexyl-PVP bei einstufiger Anbindung, so wird die erfolgreiche Anbindung von hexyl-PVP auf beiden Reaktionswegen durch Betrachtung der hochauflösenden N 1s-Spektren unterstützt (Tabelle 7-5).

**Tabelle 7-5:** relative Konzentrationen der Peaks in hochauflösenden XPS N 1s- und C 1s-Spektren von hexyl-PVP (B1, B2) und hexyl-PVP über PVP (D1, D2) auf Titan

Probe	XPS N 1s Peak Konz. in %		XPS C 1s Peak Konz. in %			
	a (399,8 eV)	b (402,3 eV)	a (285 eV)	b (286,29 eV)	c (287,36 eV)	d (289 eV)
B1	58,3	41,7	68,6	20,3	7,3	3,8
B2	68,7	31,3	69,3	23,4	7,3	-----
D1	100	-----	72,1	22,6	5,3	-----
D2	80,8	19,2	74,5	20,8	4,7	-----

Für beide Anbindungswege besteht das N 1s-Signal aus zwei Subpeaks. Der erste liegt bei einer Bindungsenergie von 399,8 eV und ist entsprechend der Literatur<sup>[123]</sup> der Imingruppe des nicht alkylierten Pyridinrings zuzuordnen. Der zweite Peak liegt bei einer Bindungsenergie von 402,3 eV und kann laut Literatur<sup>[123]</sup> den N<sup>+</sup>-Gruppen der Pyridiniumionen in N-alkylierten Pyridinringen zugeordnet werden. Die den Stickstoffsignalen entsprechenden Spezies bestätigen folglich die Anwesenheit von N-alkylierten und nicht N-alkylierten Pyridingruppen. Basierend auf dem [N<sup>+</sup>]/[N]-Verhältnis beträgt der Alkylierungsgrad der Pyridingruppen bei direkt angebundenem hexyl-PVP 58 bzw. 69 mol%. Dieser Wert spiegelt allerdings nicht die vor Anbindung für das Polymer ermittelte quantitative N-Alkylierung wieder (Kapitel 6.3.1.3.). Der N-Alkylierungsgrad für an der Oberfläche umgesetztes PVP liegt bei 0 bzw. 19 mol%. Dieser Wert ist deutlich

geringer als bei direkter Anbindung von hexyl-PVP und liegt unter den in der Literatur<sup>[123]</sup> berichteten Werten von 30 bis 40 mol%.

Neben dem Stickstoff-Signal liefert auch das hochaufgelöste Kohlenstoff-Signal wertvolle Informationen über an der Oberfläche enthaltene funktionelle Gruppen. Insgesamt lassen sich die hochaufgelösten C 1s-Spektren für beide Anbindungswege durch die gleichen Subpeaks fitten wie die mit 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure versehenen Titan-substrate (Tabelle 7-5). Auch die relativen Konzentrationen der entsprechenden Kohlenstoffspezies liegen in vergleichbarer Größenordnung. Ein auf die Anbindung von Pyridin(ium)-gruppen hinweisender Subpeak würde der Peak für C-N-Bindungen darstellen. Laut Literatur<sup>[123]</sup> liegt dieser aber bei einem Wert von 285,5 eV und kann bei dem vorliegenden System somit durch den Peak bei 285 eV überlagert werden. Deutlich beobachtet hingegen wird eine Abnahme des auf Carbonylgruppen basierenden Subpeaks bei 287,36 eV. Diese Beobachtung spricht dafür, dass der Carbonylgehalt der kovalente Anbindung vermittelnden Benzophenoneinheiten infolge der photochemischen Reaktion mit hexyl-PVP und deutlicher noch mit PVP abnimmt. Im Gegensatz zu den anderen Proben zeigt Probe B1 einen weiteren CO-Peak bei 289 eV. Von einem Peak dieser Art berichten auch CEN et al.<sup>[123]</sup> bei photochemischer Anbindung von PVP und führen ihre Beobachtung auf die Oxidation von Kohlenstoffverunreinigungen während der N-Alkylierungsreaktion zurück.

Insgesamt unterstützen die XPS-Daten eine erfolgreiche Anbindung von hexyl-PVP über beide Reaktionswege. Dabei ist der Weg über PVP und anschließende Oberflächenreaktion für die Polymeranbindung besser geeignet, das Ausmaß der N-Alkylierung wird aber stark eingeschränkt.

Unter Berücksichtigung aller Messdaten ist generell von einer erfolgreichen Anbindung des im Rahmen dieser Arbeit hergestellten, nicht oberflächenaktiven Polymers über die Methode des photochemischen „Grafting onto“ auszugehen. Eine Erklärung für die im Rahmen dieser Arbeit kaum nachweisbaren Schichtdicken von hexyl-VP und die sehr geringen Schichtdicken von PVP sowie für die von ADDEN et al. und PRUCKER et al. beobachteten geringen Schichtdicken von PVP und Polystyrol liefert die Arbeit von DORMAN et al.<sup>[124]</sup> Diese befasst sich mit einer genaueren Betrachtung des Mechanismus, welcher der in Kapitel 3.2. beschriebenen Anbindung von Polymeren über Benzophenonderivate zugrunde liegt. Die Absorption eines Photons bei einer Wellenlänge von ~ 350 nm resultiert in dem Übergang eines Elektrons von einem nichtbindenden  $sp^2$ -ähnlichen n-Orbital am Sauerstoff in ein antibindendes  $\pi^*$ -Orbital der Carbonylgruppe. In diesem biradikalischen Triplett-Übergangszustand ist das n-Orbital

am Sauerstoff aufgrund von Elektronenmangel elektrophil und interagiert mit schwachen C-H  $\sigma$ -Bindungen des anzubindenden Polymers. Die Interaktion resultiert schließlich in der Abstraktion eines Wasserstoff-Atoms und damit in einer vollständigen Besetzung des halb gefüllten n-Orbitals am Benzophenon-Sauerstoff. Die dabei gebildeten Ketyl- und Alkylradikale rekombinieren leicht unter der Ausbildung einer neuen C-C-Bindung. Neben geometrischen Faktoren hängt die Reaktivität und Effizienz der kovalenten Anbindung entscheidend von der chemischen und elektronischen Umgebung der photoreaktiven Gruppe und der Wasserstoff-Donorgruppe ab. Bestimmende Faktoren stellen dabei die Stärke der zu brechenden Bindung im Wasserstoff-Donor und die relative Stabilität der resultierenden Alkylradikale dar. In der Abwesenheit von regioselektiver Präferenz ist eine Abnahme der Reaktivität von C-H Bindungen in der Reihenfolge  $\text{NCH}_x > \text{SCH}_x > \text{Acethylen} > \text{C}=\text{CCH}_2 > \text{CH}_2 > \text{CH}_3$  zu beobachten. Wasserstoffatome von vinyllischen Verbindungen oder aromatischen Ringen werden durch Benzophenon gar nicht bzw. weniger leicht abstrahiert als solche in aliphatischer Umgebung. Hierin ist der Grund für eine schlechte photochemische Anbindbarkeit von Polystyrol, PVP und hexyl-PVP zu sehen.

## 7.2. Anbindung oberflächenaktiver (Co)Polymere

Von der Aufbringung funktioneller Oberflächenbeschichtungen durch den Einsatz von Polymeren, die eine oberflächenaktive Gruppe im Polymerrückgrad tragen und somit direkt an Titansubstrate binden können (Kapitel 3.2.), wird in der Literatur lediglich von ADDEN et al.<sup>[20]</sup> und LORENZ et al.<sup>[125]</sup> berichtet. In beiden Fällen wurde ein Copolymer entwickelt, das als Zwischenschicht zur Vermittlung von Bioaktivität an Titan als Implantatmaterial dienen soll. Konkret wurden Copolymere hergestellt, die sowohl in der Lage sind, über Phosphonsäureestergruppen an Titan anzubinden, als auch über eine weitere funktionelle Gruppe pharmazeutisch aktive Proteine kovalent anzubinden. Als oberflächenaktive Gruppe wählten beide Autoren das Phosphonat VBP. Generell sollte der für Phosphonate diskutierte Anbindungsmechanismus zu Polymerbeschichtungen führen, deren Schichtdicken durch den Gyrationradius des Copolymers bestimmt werden.<sup>[31]</sup> ADDEN et al. fanden für Copolymere mit N-Acryloxysuccinimid dieser Annahme entsprechende Schichtdicken zwischen 2 und 8 nm, wobei die Schichtdicke mit dem VBP-Gehalt im Polymer zunahm. LORENZ et al. hingegen beobachteten für Copolymere mit Glycidylmethacrylat, dass die Schichtdicke keine Funktion des VBP-Gehaltes darstellte und mit 16 bis 80 nm insgesamt wesentlich höher als erwartet lag. Begründet wird dies durch partielle Hydrolyse der im Polymer enthaltenen Epoxidgruppen gefolgt von der Reaktion mit weiteren Epoxidgruppen

oder Umesterung der Methacrylat- und Phosphonatestergruppen. Dies führt zu einer partiellen Vernetzung des auf die Oberfläche aufgetragenen Polymerfilms und die Schichtdicke wird schließlich durch das Ausmaß der Vernetzung bestimmt. Für die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Copolymere wird aufgrund der Abwesenheit leicht reaktiver Gruppen die von ADDEN et al. berichtete Schichtdickenabhängigkeit erwartet.

Die Anbindung der im Rahmen dieser Arbeit hergestellten potentiell kontaktbakteriziden Copolymere von hexyl-VP und DMMEP bzw. VBP sowie der Homopolymere von DMMEP und VBP erfolgt durch Spin Coating aus methanolischer Lösung und anschließendem Tempern bei 120°C über 18 Stunden. Überschüssiges Polymer wird durch gründliches Waschen unter Verwendung von Ultraschall entfernt, so dass eine Monoschicht von Polymerknäueln auf der Oberfläche zurück bleibt.

### 7.2.1. Ergebnisse der Anbindung von Copolymeren von hexyl-VP

In Abhängigkeit von der Copolymerzusammensetzung bewegen sich die Kontaktwinkel der Polymerbeschichtungen wie in Tabelle 7-6 dargestellt zwischen  $\theta_{adv} = 58^\circ - 72^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 40^\circ - 50^\circ$  für Poly(hexyl-VP-co-DMMEP) und zwischen  $\theta_{adv} = 64^\circ - 72^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 40^\circ - 54^\circ$  für Poly(hexyl-VP-co-VBP). Die Kontaktwinkel der mit den Homopolymeren beschichteten Oberflächen liegen bei  $\theta_{adv} = 51^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 34^\circ$  für PolyDMMEP und  $\theta_{adv} = 65^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 38^\circ$  für PolyVBP. Diese Werte zeigen gute Übereinstimmung mit den in der Literatur beschriebenen Werten für durch photochemisches „Grafting onto“ aufgetragene Schichten beider Homopolymere.<sup>[17]</sup>

Die Schichtdicken der unterschiedlichen Polymerbeschichtungen liegen in Abhängigkeit des Copolymers und der Zusammensetzung zwischen 3,1 nm und 19,4 nm (Tabelle 7-6). Ein Vergleich der für die Polymerbeschichtungen erhaltenen Kontaktwinkel mit den Werten für unbeschichtete Substrate sowie die erhaltenen Schichtdicken lassen insgesamt auf eine erfolgreiche Anbindung der Polymere schließen.



**Tabelle 7-6:** Molekulargewichte und Eigenschaften der Copolymerbeschichtungen

Probe	Zusammen- setzung	Molekular- gewicht <sup>a)</sup> (M <sub>n</sub> ) in g/mol	Schicht- dicke in nm	Kontaktwinkel	
				θ <sub>adv</sub> in °	θ <sub>rec</sub> in °
a) Poly(hexyl-VP)-co-(DMMEP):					
1a	24:76	----- <sup>b)</sup>	3,1 ± 0,1	63 ± 1	39 ± 1
1b	40:60	41 400	3,6 ± 0,2	65 ± 1	40 ± 1
1c	60:40	32 000	3,5 ± 0,2	67 ± 1	40 ± 2
1d	69:31	42 500	7,4 ± 0,4	70 ± 3	47 ± 3
1e	79:21	39 700	10,9 ± 2,9	74 ± 1	49 ± 1
<i>PolyDMMEP</i>		2,3x10 <sup>6</sup>	19,4 ± 4,9	51 ± 2	35 ± 4
b) Poly(hexyl-VP)-co-(VBP):					
2a	10:90	----- <sup>c)</sup>	3,7 ± 0,4	64 ± 2	40 ± 3
2b	20:80		4,3 ± 0,6	66 ± 2	43 ± 3
2c	49:51		4,9 ± 0,4	67 ± 2	45 ± 1
2d	60:40		5,3 ± 0,5	69 ± 3	44 ± 3
2e	69:31		8,7 ± 0,7	72 ± 4	48 ± 5
2f	78:22		11,8 ± 1,8	70 ± 5	54 ± 6
<i>PolyVBP</i>			6,4 ± 0,8	65 ± 2	38 ± 4

<sup>a)</sup> angegeben sind die Molekulargewichte der Präpolymere vor N-Alkylierung; <sup>b)</sup> Molekulargewicht kann nicht bestimmt werden, da das Polymer in Wasser unlöslich ist; <sup>c)</sup> (Co)polymere von VBP zeigen bei GPC-Messungen unter Verwendung von THF als Lösungsmittel keine Signale

Eine Untersuchung der chemischen Identität der angebundenen Makromoleküle mittels XPS erfolgt exemplarisch an den Copolymeren von hexyl-VP und DMMEP. Nach Polymeranbindung dominiert ein signifikanter Anstieg der Kohlenstoff- und Stickstoffsignale die XPS-Spektren. Zudem treten Phosphor- und Bromsignale auf, die auf die chemische Zusammensetzung der Copolymere zurückzuführen sind. Ebenso sind Signale der Substratoberfläche sichtbar, aber weniger stark ausgeprägt als bei unbeschichteten Substraten. Da XPS durch eine definierte Eindringtiefe charakterisiert ist, erlaubt diese Beobachtung den Rückschluss auf das Vorliegen maximaler Schichtdicken. Die untersuchten Polymere bilden also Schichtdicken aus, die geringere Dimensionen annehmen als die Eindringtiefe der Photonenstrahlung des XPS mit etwa 10 nm. Somit beziehen sich die mittels XPS erhaltenen Informationen auf die elementare Zusammensetzung über die gesamte Tiefe des Polymerfilms. Zudem lassen Signale der Substratoberfläche Rückschlüsse auf die Schichtdicke des Polymerfilms zu. Ein Vergleich der mit Polymeren unterschiedlicher Comonomerverhältnisse

beschichteten Substrate untereinander zeigt, dass ein Anstieg im Phosphonatgehalt in einem Anstieg des Phosphorsignals im XPS resultiert. Zusätzlich hat eine Zunahme des hexyl-VP-Anteils im Copolymer einen Anstieg des Stickstoffsignals zur Folge (Tabelle 7-7).

**Tabelle 7-7:** elementare Zusammensetzungen von Copolymerfilmen und polierten Titansubstraten nach XPS

Probe	atomare Konzentration in %					
	Ti 2p	O 1s	C 1s	P 2p	N 1s	Br 3d
<i>Substrat</i>	18,4 ± 0,3	54,4 ± 0,2	26,5 ± 0,5	-----	0,7 ± 0,1	-----
1a	11,0 ± 0,1	39,3 ± 0,4	45,5 ± 0,2	0,9	3,1 ± 0,1	0,3
1b	10,7 ± 1,2	40,4 ± 0,7	44,7 ± 1,9	1,2 ± 0,1	2,9 ± 0,1	0,3
1c	10,3 ± 0,6	39,1 ± 1,6	46,4 ± 2,5	1,4 ± 0,1	2,7 ± 0,1	0,3
1d	4,7 ± 0,4	32,3 ± 1,0	57,2 ± 0,9	2,7 ± 0,3	2,3 ± 0,1	-----
1e	4,3 ± 0,3	33,6 ± 1,1	55,9 ± 1,8	3,2 ± 0,2	1,7 ± 0,2	-----

Neben der elementaren Zusammensetzung der Polymerbeschichtungen sind zwei Verhältnisse bestimmter Elemente zueinander von besonderem Interesse. Dieses ist zum einen das Stickstoff zu Phosphor-Verhältnis und zum anderen das Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnis. Die Verhältnisse von Stickstoff zu Phosphor zeigen innerhalb der Copolymerreihe eine Abnahme mit steigenden Phosphonatgehalt im Polymer. Ein Vergleich dieser Werte mit den durch Elementaranalyse bestimmten Stickstoff zu Phosphor-Verhältnissen für die jeweiligen Polymere in Substanz zeigen nicht nur einen einheitlichen Trend, sondern auch die Absolutwerte zeigen gute Übereinstimmung (Tabelle 7-8).

**Tabelle 7-8:** Stickstoff zu Phosphor-Verhältnisse (N/P) der Copolymere nach XPS und Elementaranalyse (EA)

Probe	N/P (XPS)	N/P (EA)
1a	3,38	3,76
1b	2,38	2,18
1c	1,96	1,44
1d	0,85	0,67
1e	0,53	0,28

Die Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnisse sind insofern von Interesse, als dass durch XPS-Untersuchungen generell die Anwesenheit bestimmter Copolymere an der Oberfläche nachgewiesen werden kann, die mittels XPS bestimmten Bromgehalte aber wesentlich

geringer sind als die Erwartungswerte. Diese Beobachtung kann durch eine Zersetzung von Brom unter den Bedingungen während der XPS Messungen erklärt werden. Aus diesem Grund können die Bromgehalte nicht für eine Quantifizierung der N-Alkylierungsgrade in den Polymerbeschichtungen herangezogen werden. Eine Alternative für die vorliegenden Copolymere stellt aber das Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnis dar. Die N-Alkylierung von Pyridingruppen im Polymer führt nicht nur zu der Einlagerung von Bromid, sondern auch zu einer Erhöhung des Kohlenstoffanteils infolge der Einführung von Hexylketten. Tabelle 7-9 zeigt die anhand der Summenformel des jeweiligen Copolymers bei vollständiger N-Alkylierung zu erwartenden Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnisse. Vergleichend zu diesen Werten sind die Quotienten der bereinigten atomaren Konzentrationen von Kohlenstoff zu Stickstoff aus den in der Praxis erhaltenen XPS-Daten aufgeführt. Über diese Quotienten und die Formulierung einer dem Problem angepassten Summenformel lässt sich der tatsächliche N-Alkylierungsgrad bestimmen. Dazu werden in der herangezogenen Summenformel neben dem Phosphonat-Baustein hexyl-VP und 4-VP (d. h. nicht umgesetzte Pyridin-gruppen) als weitere Monomereinheiten berücksichtigt. Dabei stellen der jeweilige Gehalt des Phosphonatmonomers und die Summe aus hexyl-VP und 4-VP bekannte Werte dar. Unbestimmt ist das Verhältnis von hexyl-VP zu 4-VP und damit der N-Alkylierungsgrad. Dieser lässt sich nun anhand der aus den XPS-Messungen erhaltenen Quotienten berechnen. Wie Tabelle 7-9 zeigt, liegen die aus den XPS-Daten berechneten N-Alkylierungsgrade zwischen 77,9 mol-% und 96,3 mol-%. Polymer *1e* mit dem höchsten DMMEP-Gehalt weicht mit einem N-Alkylierungsgrad von 11 mol-% deutlich von den anderen Polymeren ab. Ähnliche Ergebnisse zeigen sich auch für die in Kapitel 7.2.2. diskutierten partiell N-alkylierten silberhaltigen Kompositsysteme mit hohem VBP-Gehalt. Auch diese Polymere weisen wie Polymer *1e* nur einen geringen Gehalt an hexyl-VP auf. Daher liegt die Vermutung nahe, dass die Methode der XPS-Untersuchung bei Polymeren mit geringem Gehalt an hexyl-VP generell zu starken Abweichungen bei der Bestimmung des N-Alkylierungsgrades über das C/N-Verhältnis führt.

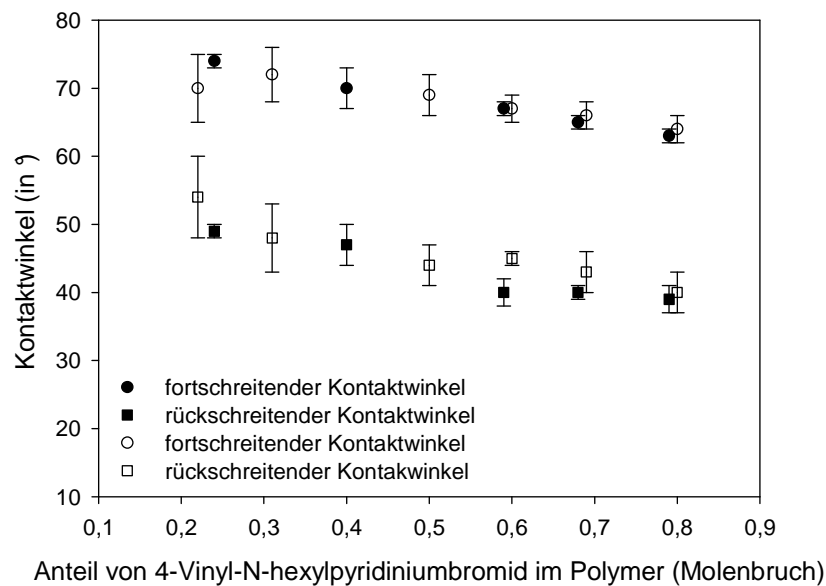
**Tabelle 7-9:** N-Alkylierungsgrade nach Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnissen (C/N) der Copolymerfilme

Probe	C/N (Theorie)	C/N (XPS)	N-Alkylierungsgrad in %
1a	15,13	14,90	96,2
1b	16,76	15,40	77,9
1c	18,56	17,51	82,5
1d	25,00	24,78	96,3
1e	38,33	33,0	11,0

Insgesamt betrachtet stimmen die Daten aus den XPS-Messungen gut mit der Theorie überein und unterstützen eine erfolgreiche Anbindung der untersuchten phosphonathaltigen Polymere an Titan(oxid)oberflächen. Neben Untersuchung der chemischen Identität der angebundenen Makromoleküle können weiterhin Zusammenhänge zwischen Copolymerzusammensetzung und Oberflächenbenetzbarkeit bzw. Schichtdicke hergestellt werden, die im folgenden Unterkapitel diskutiert werden.

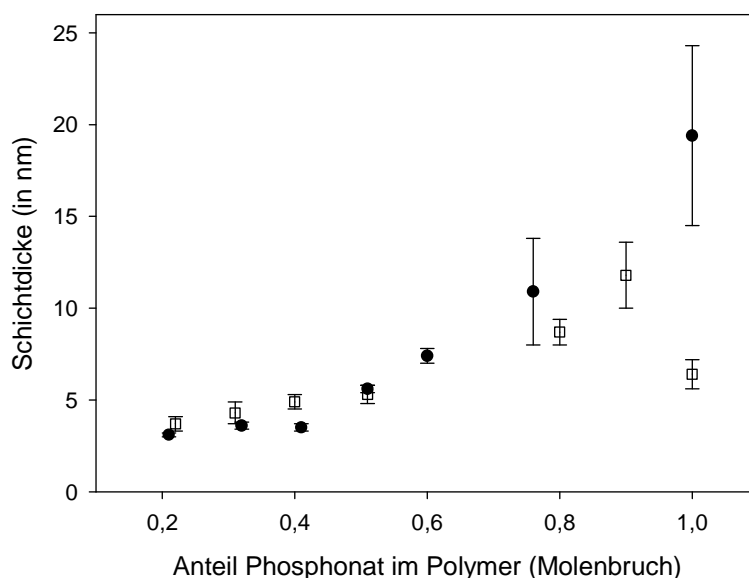
#### 7.2.1.1. Einflussgröße Copolymerzusammensetzung

Sowohl Oberflächenbenetzbarkeit als auch Schichtdicken der polymerbeschichteten Substrate zeigen für beide Copolymersysteme eine wohl definierte Abhängigkeit von der Copolymerzusammensetzung. Da hexyl-VP als Struktureinheit eine quartäre Ammoniumsalzgruppe in Verbindung mit einer hydrophoben Alkylkette darstellt, kann eine Zunahme des Anteils an hexyl-VP in der Theorie zwei unterschiedliche Auswirkungen auf die Oberflächenbenetzbarkeit haben. Auf der einen Seite sollte eine Erhöhung des Anteils an hydrophoben Alkylketten im Polymer eine Zunahme der Oberflächenhydrophobizität verursachen. Auf der anderen Seite stehen die hydrophoben Alkylketten in Verbindung mit kationischen Ammoniumsalzgruppen, welche als hydrophile Komponenten zu einer Abnahme der Hydrophobizität führen können. Wie eine Auftragung des Kontaktwinkels gegen die Copolymerzusammensetzung (Abbildung 7-2) zeigt, resultiert eine Zunahme des Gehaltes an hexyl-VP für beide Copolymersysteme in einer Abnahme des Kontaktwinkels und somit in einer Abnahme der Oberflächenhydrophobizität. Aus diesem Befund kann geschlossen werden, dass der Einfluss der kationischen Ladungsdichte der Pyridiniumgruppen im Copolymer den Einfluss der hydrophoben Alkylketten in Hinblick auf die Oberflächenbenetzbarkeit überwiegt. Das Homopolymer von DMMEP zeigt deutlich hydrophilere Eigenschaften als jedes seiner Copolymere.



**Abbildung 7-2:** Kontaktwinkel als Funktion der Copolymerzusammensetzung für Copolymere von DMMEP (gefüllte Symbole) und VBP (halbgefüllte Symbole)

Wie in Kapitel 3.2. ausgeführt, stellt die durch photochemisches „Grafting onto“ auf ein Substrat aufgebrachte Schichtdicke eine Funktion des Gyrationradius des eingesetzten Polymers dar. Da zwischen Schichtdicke und Gyrationradius ein linearer Zusammenhang beobachtet wird und der Gyrationradius wiederum eine Funktion des mittleren Molekulargewichts des Polymers ist, besteht auch zwischen Schichtdicke und Molekulargewicht des Polymers ein linearer Zusammenhang.<sup>[10, 31]</sup> Die für eine kontaktbakterizide Oberflächenbeschichtung eingesetzten Copolymere von hexyl-VP und DMMEP bzw. VBP variieren weder signifikant noch systematisch in ihren Molekulargewichten. Sollten Polymere, die direkt über oberflächenaktive Gruppen an Titan binden, eine vergleichbare Abhängigkeit der Schichtdicken vom Molekulargewicht zeigen, so werden für die hier eingesetzten Copolymere keine Unterschiede in den Schichtdicken erwartet. Lediglich für PolyDMMEP wäre eine erhöhte Schichtdicke aufgrund des deutlich höheren Molekulargewichts zu erwarten. Wie aus Tabelle 7-6 ersichtlich wird, hängt die Schichtdicke in der Tat nicht vom Molekulargewicht des Polymers ab. Es findet aber ein wohl definierter Anstieg der Schichtdicke mit steigendem Phosphonatgehalt im Polymer statt (Abbildung 7-3). Neben den ellipsometrischen Daten unterstützen auch die XPS-Untersuchungen diesen Zusammenhang. Eine leichte Abnahme des Titan-Signals mit steigendem Anteil an DMMEP in der Polymerbeschichtung lässt auch hier auf eine steigende Schichtdicke mit steigendem Phosphonatgehalt schließen (Tabelle 7-7).



**Abbildung 7-3:** Schichtdicken als Funktion der Copolymerzusammensetzung für Copolymere von DMMEP (gefüllte Symbole) und VBP (halbgefüllte Symbole)

Für eine Erklärung der beobachteten Abhängigkeit müssen mehrere Aspekte betrachtet werden. Zum einen stellen die durch photochemisches „Grafting onto“ aufgetragenen Polymere Homopolymere desselben Monomers mit gezielten Unterschieden im Molekulargewicht dar.<sup>[10, 31]</sup> In der vorliegenden Arbeit hingegen werden Copolymere mit vergleichbarem Molekulargewicht aber unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet. Copolymere unterschiedlicher Zusammensetzung aber vergleichbarer Molekulargewichte bedingen nicht automatisch einen vergleichbaren Gyrationradius. Daher können Unterschiede in der Copolymerzusammensetzung in Unterschieden in den beobachteten Schichtdicken resultieren. Weiterhin kann bei dem Einsatz von Copolymeren die Annahme gemacht werden, dass die Comonomere selektiv mit der Substratoberfläche wechselwirken. Somit ist eine Abweichung vom idealen Knäuel zu erwarten, wobei das Ausmaß dieser Abweichung von der Copolymerzusammensetzung abhängig ist und sich in der Schichtdicke äußert. Ein weiterer Aspekt ist, dass ein Anstieg des Phosphonatgehalts im Polymer auch eine Zunahme an oberflächenaktiven Gruppen bedeutet. Dies wiederum resultiert in einer größeren Anzahl von Bindungsstellen zwischen Polymerkette und Substratoberfläche, so dass nach dem Waschprozess ein höherer Polymeranteil auf der Substratoberfläche verbleibt. Als letzter Aspekt müssen insbesondere für Polymere mit hohem Phosphonatgehalt auch Aggregationsphänomene in Betracht gezogen werden. Zeigen Monoschichten von Polymeren typischerweise Schichtdicken zwischen 2 nm und 10 nm,<sup>[10, 17]</sup> so liegt die speziell für das Homopolymer von DMMEP gemessene Schichtdicke deutlich höher als erwartet. Zusätzlich

wird neben einer Zunahme der Schichtdicke mit Anstieg des Phosphonatgehalts im Polymer auch eine Erhöhung der Standardabweichungen beobachtet. Erklärbar ist dieses Verhalten durch eine Aggregation von Polymerknäueln, was neben einer Erhöhung der Schichtdicke auch eine weniger homogene Verteilung der Polymerknäuel auf der Oberfläche zur Folge hat.

### 7.2.2. Ergebnisse der Anbindung silberhaltiger Komposite

Auswirkungen der Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in partiell N-alkylierte Polymermatrices werden durch eine Betrachtung von Kontaktwinkeln und Schichtdicken sowohl der immobilisierten Kompositmaterialien als auch der Polymermatrices untersucht. Es ist bei allen Untersuchungen zu beachten, dass der Umsatz der Polymermatrices mit Silber para-Toluolsulfonat (AgPTS) zu einer Veränderung der Zusammensetzung des Beschichtungsmaterials führt. So wird beispielsweise für Polymer 2i (24%) vor der Umsetzung mit AgPTS die Summenformel (hexyl-VP)<sub>0,20</sub>(VP)<sub>0,62</sub>(VBP)<sub>0,18</sub> angenommen. Nach der Umsetzung mit AgPTS lautet die für sämtliche Auswertungen herangezogene Summenformel (hexyl-VP)<sub>0,17</sub>(VP)<sub>0,51</sub>(VBP)<sub>0,15</sub>(AgPTS)<sub>0,17</sub>. Diese Vorgehensweise erfolgt analog SAMBHY et al.<sup>[45]</sup> und wurde ebenfalls für die in Kapitel 6.4.1.2. diskutierte quantitative Untersuchung der Einlagerung von Silberbromid mittels TGA zugrunde gelegt. Die Kontaktwinkel liegen sowohl für die Polymer- (Tabelle 7-10) als auch für die Kompositbeschichtungen (Tabelle 7-11) in einem eng verteilten Bereich mit Werten von  $\theta_{adv} \approx 60^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} \approx 40^\circ$ .

**Tabelle 7-10:** Schichtdicken und Kontaktwinkel von Beschichtungen mit Polymermatrices

Probe <sup>b)</sup>	$\chi_{VBP}$ <sup>a)</sup>	Schichtdicke in nm	Kontaktwinkel	
			$\theta_{adv}$ in °	$\theta_{rec}$ in °
2h (26%)	0,24	3,9 ± 0,4	60 ± 2	39 ± 2
2h (58%)	0,24	4,4 ± 0,5	62 ± 2	39 ± 2
2i (24%)	0,18	4,5 ± 0,5	61 ± 1	38 ± 3
2i (61%)	0,18	4,4 ± 0,4	63 ± 2	40 ± 2

<sup>a)</sup> Molenbruch der VBP-Comonomereinheiten im Polymer; <sup>b)</sup> der in Klammern angegebene Wert steht für den N-Alkylierungsgrad mit 1-Bromhexan

Die Oberflächenbenetzbarkeit zeigt damit keine Abhängigkeit von der Polymerzusammensetzung oder dem Alkylierungsgrad. Diese Beobachtung kann auf die geringe Variation von insbesondere der Polymerzusammensetzung im Vergleich zu den untersuchten Copolymeren von hexyl-VP und DMMEP bzw. VBP (Kapitel 7.2.1.1.) zurückgeführt werden.

Zeigen Kompositbeschichtungen und Polymermatrices zwar nahezu identische Kontaktwinkel, so sind für die Kompositbeschichtungen aber höhere Standardabweichungen in den Werten zu beobachten. Dies kann auf eine Zunahme der Oberflächenrauigkeiten durch die eingelagerten Nanopartikel zurückgeführt werden.

**Tabelle 7-11:** Schichtdicken und Kontaktwinkel von Kompositbeschichtungen

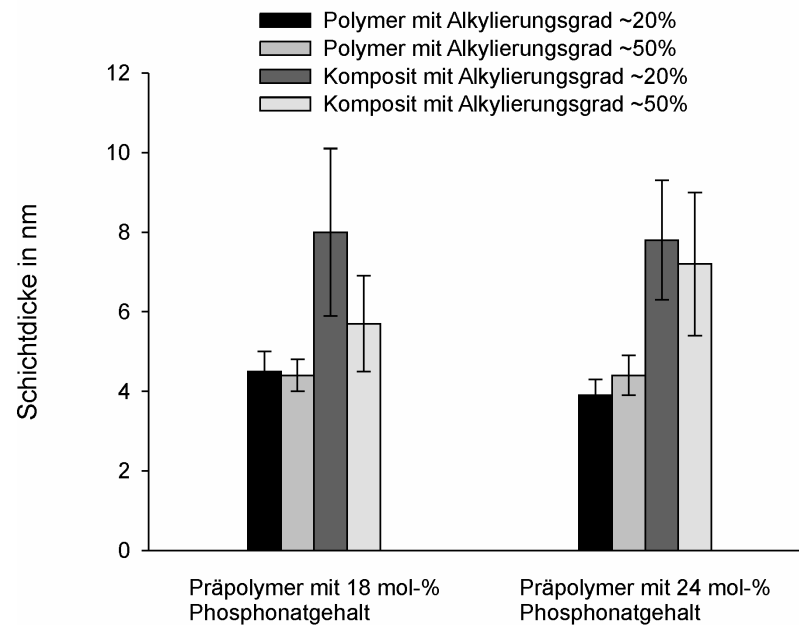
Probe	$\chi_{\text{VBP}}^{\text{a)}}$	AgBr-Gehalt in wt.-%	Ø Partikel- größe in nm	Schichtdicke in nm	Kontaktwinkel	
					$\theta_{\text{adv}}$ in °	$\theta_{\text{rec}}$ in °
2g (51%)	0,26	11,7	17,2	$5,8 \pm 1,2$	n.b.	n.b.
2h (26%)	0,20	2,7	50,1	$7,8 \pm 1,5$	$60 \pm 3$	$39 \pm 3$
2h (58%)	0,17	9,7	11,6	$7,2 \pm 1,8$	$61 \pm 5$	$44 \pm 8$
2i (24%)	0,15	8,9	21,5	$8,0 \pm 2,1$	$62 \pm 3$	$40 \pm 4$
2i (61%)	0,12	19,2	15,5	$5,7 \pm 1,2$	$59 \pm 4$	$41 \pm 3$

<sup>a)</sup> Molenbruch der VBP-Comonomereinheiten im Polymer

Aus dem gleichen Grund wie für die Kontaktwinkel besteht auch für die Schichtdicken weder der Polymermatrices noch der Komposite ein deutlicher Zusammenhang zwischen Schichtdicke und Polymerzusammensetzung oder N-Alkylierungsgrad. Ein Vergleich der auf identischen Präcopolymeren basierenden Komposite zeigt die Tendenz zu einer Erhöhung der Schichtdicken mit abnehmendem Alkylierungsgrad (Abbildung 7-4). Ein Vergleich der Polymermatrices zeigt, dass für diese keine bzw. eher eine den Kompositen entgegengesetzte Tendenz zu beobachten ist. Allerdings kann der Einfluss des N-Alkylierungsgrades nicht als signifikant eingestuft werden.

Neben der chemischen Identität des eingesetzten Polymers zeigen auch Variationen in den mittels TEM bestimmten Partikelgrößen des eingelagerten Silberbromids oder den aus TGA-Messungen bestimmten Silbergehalten keinen Einfluss auf die gefundenen Schichtdicken (Tabelle 7-11). Insgesamt ist bei der Betrachtung der Schichtdicken von Polymer- und Kompositbeschichtungen aber eine klare Folge der Einlagerung von Nanopartikeln auszumachen. Liegen die Schichtdicken der Polymerbeschichtungen zwischen 3,9 nm und 4,5 nm (Tabelle 7-10), so liegen die Schichtdicken der Kompositbeschichtungen mit 5,7 nm bis 8,0 nm (Tabelle 7-11) deutlich höher. Zudem ist analog zu den Kontaktwinkeln ein Anstieg in der Standardabweichung zu beobachten.



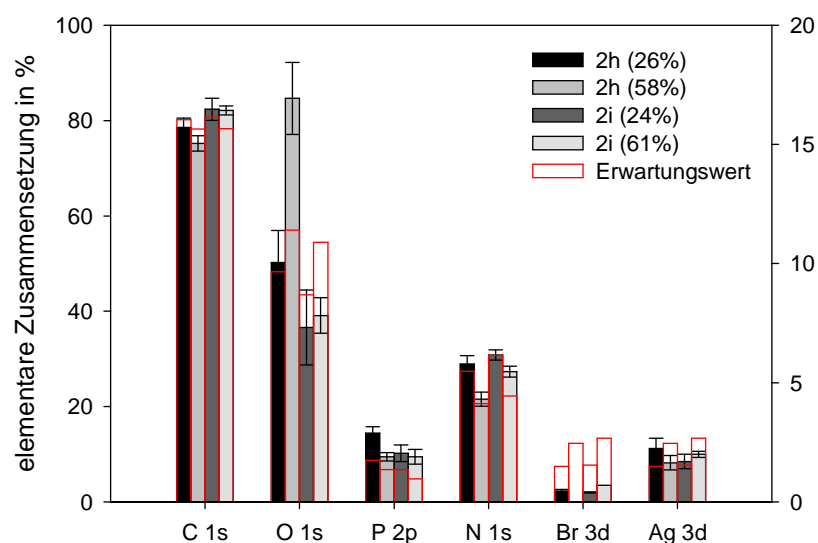


**Abbildung 7-4:** Schichtdicken von Polymer- und Kompositbeschichtungen

Zusammenfassend lassen ein Vergleich der für die Polymer- und Kompositbeschichtungen gefundenen Kontaktwinkel mit den Werten für unbeschichtete Substrate sowie die erhaltenen Schichtdicken auf eine erfolgreiche Anbindung der Polymer- und Kompositssysteme schließen. Die beobachteten Unterschiede zwischen Polymer- und Kompositbeschichtungen stellen weiterhin ein Indiz für das Vorliegen von Silberbromid-Nanopartikeln in den Kompositbeschichtungen auch nach Anbindung an Titansubstrate dar.

Eine Untersuchung der chemischen Identität der im Rahmen dieser Arbeit an Titan(oxid)-oberflächen gebundenen silberhaltigen Kompositmaterialien mittels XPS erfolgt exemplarisch an dem hier diskutierten, nicht thermisch vernetzbaren System. Aufgrund der ähnlichen chemischen Zusammensetzung wird angenommen, dass Erkenntnisse aus dem nicht vernetzbaren System prinzipiell auf das thermisch vernetzbare System übertragbar sind. XPS-Untersuchungen an vier der Kompositmaterialien zeigen, dass die Kompositanbindung analog zu der Anbindung von Copolymeren von hexyl-VP und DMMEP in einem signifikanten Anstieg der Kohlenstoff- und Stickstoffsignale resultiert. Zudem treten für die Polymermatrices charakteristische Signale von Phosphor und Brom sowie das für die Komposite charakteristische Signal von Silber auf (Tabelle 7-12). Abbildung 7-5 zeigt, dass Erwartungswerte und mittels XPS bestimmte Werte für die elementare Zusammensetzung der Kompositbeschichtungen für Kohlenstoff und Stickstoff gut übereinstimmen. Phosphor ist entgegen der in Kapitel 7.1.2.1. beschriebenen Orientierung an die Titan/Monoschicht-Grenzfläche leicht überbestimmt. Zudem ist Brom aus den in Kapitel 7.2.1. genannten

Gründen stark unterbestimmt. Die in Abbildung 7-5 für Silber dargestellten Erwartungswerte stellen die für eine quantitative Einlagerung von Silberbromid berechneten Erwartungswerte dar. Die mittels XPS ermittelten Silbergehalte stimmen gut mit diesen Erwartungswerten überein. Damit spiegeln sie aber nicht die in Kapitel 6.4.1.2. beschriebenen Ergebnisse der thermo-gravimetrischen Bestimmung der Silberbromid-Gehalte wieder. Diese lagen deutlich unterhalb der Erwartungswerte und sprachen entgegen der mittels XPS erhaltenen Daten für eine nicht quantitative Einlagerung von Silberbromid. Als Ursache hierfür kann gesehen werden, dass die XPS-Messungen nur einen Ausschnitt der gesamten Probe und damit der mittleren Silberverteilung zeigen.



**Abbildung 7-5:** elementare Zusammensetzung der unterschiedlichen Kompositbeschichtungen

Neben den für die Komposite charakteristischen Elementen zeigen die XPS-Messungen auch Titan-Signale der Substratoberfläche. Diese sind für die Komposite weniger stark ausgeprägt als bei unbeschichteten Substraten. Es kann aber entgegen der Beobachtungen für Copolymere von hexyl-VP und DMMEP kein Zusammenhang zwischen Schichtdicke und Titansignal abgeleitet werden. Dieser Befund unterstreicht die bereits in der Diskussion von Kontaktwinkel und Schichtdicke geäußerte Zunahme der Inhomogenität bzw. Rauigkeit der Substratoberfläche durch die Komposit- im Vergleich zu Polymerbeschichtungen.

Ein Vergleich der mit Kompositen unterschiedlicher Phosphonatgehalte beschichteten Substrate untereinander zeigt, dass ein Anstieg im Phosphonatgehalt in einem Anstieg des Phosphorsignals im XPS resultiert. Zusätzlich hat eine Zunahme der Summe aus hexyl-VP- und VP-Anteil im Komposit einen Anstieg des Stickstoffsignals zur Folge (Tabelle 7-12).

**Tabelle 7-12:** elementare Zusammensetzungen von Kompositfilmen und polierten Titansubstraten nach XPS

Probe	atomare Konzentration in %						
	Ti 2p	O 1s	C 1s	P 2p	N 1s	Br 3d	Ag 3d
<i>Substrat</i>	18,4 ± 0,3	54,4 ± 0,2	26,5 ± 0,5	-----	0,7 ± 0,1	-----	-----
2h (26%)	10,0 ± 0,7	35,5 ± 0,8	47,7 ± 1,2	1,8 ± 0,2	3,5 ± 0,2	0,27	1,4 ± 0,3
2h (58%)	n.b.	32,6 ± 1,1	52,9 ± 1,1	1,3 ± 0,1	3,0 ± 0,2	n.b.	1,2 ± 0,2
2i (24%)	9,9 ± 0,2	33,7 ± 1,0	50,2 ± 1,5	1,2 ± 0,2	3,8 ± 0,1	0,24	1,0 ± 0,2
2i (61%)	12,0 ± 0,4	39,7 ± 0,4	43,0 ± 0,5	1,0 ± 0,2	2,9 ± 0,1	0,36	1,0 ± 0,1

Neben der elementaren Zusammensetzung der Kompositbeschichtungen sind auch hier die Verhältnisse von Stickstoff zu Phosphor und von Kohlenstoff zu Stickstoff von Interesse. Bezüglich des Verhältnisses von Stickstoff zu Phosphor sind für die vorliegenden Komposite zwei Punkte zu beachten. Zum einen sind die Phosphonatgehalte in den Kompositen sowie die Unterschiede zwischen den Kompositen sehr gering. Zum anderen liegen die mittels XPS bestimmten Phosphorgehalte für alle Komposite über den Erwartungswerten. Diese beiden Tatsachen lassen erwarten, dass geringere N/P-Verhältnisse gemessen werden als theoretisch erwartet und dass die Unterschiede im Phosphonatgehalt der Komposite sich nicht im N/P-Verhältnis niederschlagen. Wie Tabelle 7-13 zu entnehmen ist, wirken sich die diskutierten Faktoren in der Tat wie erwartet aus und die N/P-Verhältnisse zeigen entsprechende Abweichungen von den Erwartungswerten.

**Tabelle 7-13:** Stickstoff zu Phosphor-Verhältnisse (N/P) der Komposite nach XPS und Erwartungswerte

Probe	N/P (XPS)	N/P (EA)
2h (26%)	2,00	3,15
2h (58%)	2,28	3,06
2i (24%)	3,02	4,53
2i (61%)	2,89	4,58

Das Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff wird auch für die Kompositmaterialien für eine Quantifizierung der N-Alkylierungsgrade in den Beschichtungen herangezogen. Tabelle 7-14 zeigt, dass die C/N-Verhältnisse und die daraus ermittelten N-Alkylierungsgrade mit Ausnahme von Komposit *2i* (24%) deutlich unter den Erwartungswerten und damit den mittels  $^1\text{H}$ -NMR bestimmten N-Alkylierungsgraden liegen.

**Tabelle 7-14:** N-Alkylierungsgrade nach Kohlenstoff zu Stickstoff-Verhältnissen (C/N) der Kompositfilme

Probe	C/N (Theorie)	C/N (XPS)	N-Alkylierungsgrad in %
2h (26%)	14,63	13,57	9,5
2h (58%)	18,99	17,45	34,6
2i (24%)	13,13	13,33	27,7
2i (61%)	17,64	15,05	16,4

Eine Bestimmung des N-Alkylierungsgrades mittels XPS ist neben der Ermittlung des Verhältnisses von Kohlenstoff zu Stickstoff auch über die Betrachtung hochauflösender Spektren von Stickstoff möglich. Im vorliegenden Fall lassen sich die Stickstoff-Peaks durch die Anwesenheit von drei Stickstoffspezies fitten. Dabei handelt es sich neben den zu erwartenden aromatischen und quartären Spezies auch um eine oxidierte Form. Eine Bestimmung des N-Alkylierungsgrades über das Verhältnis von quartärer zu aromatischer Spezies führt im Vergleich zu den Werten aus dem Verhältnis von Kohlenstoff zu Stickstoff zu deutlich erhöhten Alkylierungsgraden und stimmt besser mit den mittels  $^1\text{H-NMR}$  bestimmten Werten überein (Tabelle 7-15). Das Auftreten einer oxidierten Spezies von Stickstoff kann zum einen über die Einlagerung des während der N-Alkylierung verwendeten Lösungsmittels Nitromethan erklärt werden. Da Bromhexan im Rahmen einer partiellen N-Alkylierungsreaktion nicht im Überschuss zugesetzt werden kann, ist aber auch die in Kapitel 6.3. diskutierte Nebenreaktion in Form einer Protonierung von 4-VP durch die *aci*-Form von Nitromethan als Ursache für das Auftreten einer oxidierten Stickstoffspezies denkbar. Neben dem tatsächlichen Vorliegen einer oxidierten Stickstoffspezies könnte das XPS-Signal vielleicht aber auch auf nicht N-alkylierte Stickstoffatome in Pyridin zurückzuführen sein, deren freie Elektronenpaare mit eingelagerten Silberbromid-Nanopartikeln wechselwirken. Diese Annahme würde allerdings zu deutlich niedrigeren N-Alkylierungsgraden führen als in Tabelle 7-15 angegeben und in der Theorie zu erwarten.

**Tabelle 7-15:** N-Alkylierungsgrade nach dem Verhältnis quartärer zu aromatischer Stickstoffatome

Probe	N <sub>aromat.</sub> in %	N <sub>quart.</sub> in %	N <sub>oxid.</sub> in %	N-Alkylierungsgrad in %
2h (26%)	57,1	31,3	11,6	35,4
2h (58%)	44,8	43,4	11,8	49,2
2i (24%)	61,8	28,8	9,4	31,8
2i (61%)	40,3	44,4	15,3	52,4

Insgesamt stehen die Daten aus den XPS-Messungen für eine erfolgreiche Anbindung der untersuchten silberhaltigen Komposite an Titan(oxid)oberflächen und bestätigen das Vorliegen von Silber an der Substratoberfläche auch nach dem Anbindungs- und Waschprozess.

### 7.2.3. Ergebnisse zur Anbindung vernetzbarer, silberhaltiger Komposite

Eine Bestätigung der Anbindung von Polymermatrices und Kompositen, die ungesättigte Gruppen beinhalten und über diese auf der Substratoberfläche vernetzen sollen, wird ausschließlich durch eine Betrachtung von Kontaktwinkeln und Schichtdicken vorgenommen. Die bis zu diesem Punkt aus XPS-Untersuchungen erhaltenen Informationen im Rahmen der Anbindung von phosphonathaltigen Copolymeren und nicht thermisch vernetzbaren Kompositen zeigen ein vollständiges Bild und werden aufgrund der chemischen Ähnlichkeit zu dem vorliegenden System als übertragbar angesehen.

Die Kontaktwinkel der Polymerbeschichtungen bewegen sich in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung zwischen  $\theta_{adv} = 55^\circ - 67^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 38^\circ - 50^\circ$  (Tabelle 7-16). Eine Zunahme des Anteils an Hexenylketten im Polymer resultiert dabei in einer Abnahme des Kontaktwinkels und damit der Oberflächenhydrophobizität.

**Tabelle 7-16:** Schichtdicken und Kontaktwinkel von Beschichtungen mit Polymermatrices

Probe <sup>b)</sup>	$\chi_{\text{Hexenyl}}$ <sup>a)</sup>	Schichtdicke in nm	Kontaktwinkel	
			$\theta_{adv}$ in °	$\theta_{rec}$ in °
1f (23% / 13%)	0,06	$38,1 \pm 3,4$	$67 \pm 5$	$50 \pm 5$
1f (16% / 24%)	0,12	$53,6 \pm 5,2$	$65 \pm 8$	$49 \pm 11$
1f (12% / 29%)	0,14	$68,5 \pm 7,8$	$63 \pm 4$	$47 \pm 5$
1f (--- / 43%)	0,21	$91,8 \pm 6,6$	$55 \pm 5$	$38 \pm 4$

<sup>a)</sup> Molenbruch der mit Bromhexen umgesetzten Vinylpyridineinheiten im Polymer

<sup>b)</sup> die in Klammern angegebenen Werte stehen für den N-Alkylierungsgrad mit 1-Bromhexan und den N-Alkylierungsgrad mit 6-Brom-1-hexen

Die Kontaktwinkel der Kompositbeschichtungen nehmen im Vergleich mit den entsprechenden Polymermatrices mit  $\theta_{adv} = 45^\circ - 59^\circ$  bzw.  $\theta_{rec} = 31^\circ - 36^\circ$  geringere Werte an (Tabelle 1-17). Dabei zeigt die Oberflächenbenetzbarkeit für die Komposite keine Abhängigkeit von dem Anteil an Hexenylketten im Polymer. Insgesamt werden für die vernetzbaren Systeme sowohl vor als auch nach Einlagerung von Silberbromid höhere Standardabweichungen in den Kontaktwinkeln beobachtet als für alle anderen Systeme. Die

Ursache hierfür ist in einer Zunahme der Inhomogenität bzw. Rauigkeit der Oberflächenbeschichtung mit zunehmender Schichtdicke bzw. Einlagerung von Nanopartikeln zu sehen.

**Tabelle 7-17:** Schichtdicken und Kontaktwinkel von Kompositbeschichtungen

Probe	$\chi_{\text{Hexenyl}}^{\text{a)}}$	AgBr-Gehalt in wt.-%	Ø Partikel- größe in nm	Schichtdicke in nm	Kontaktwinkel	
					$\theta_{\text{adv}}$ in °	$\theta_{\text{rec}}$ in °
1f (23% / 13%)	0,06	9,1	11,8	$22,1 \pm 3,9$	$52 \pm 7$	$36 \pm 8$
1f (16% / 24%)	0,12	16,6	9,4	$25,7 \pm 3,3$	$59 \pm 3$	$39 \pm 6$
1f (12% / 29%)	0,14	16,4	10,8	$23,1 \pm 1,9$	$52 \pm 4$	$31 \pm 4$
1f (--- / 43%)	0,21	10,2	15,5	$28,0 \pm 6,3$	$45 \pm 4$	$31 \pm 4$

<sup>a)</sup> Molenbruch der mit Bromhexen umgesetzten Vinylpyridineinheiten im Polymer

Die von den Polymermatrices ausgebildeten Schichtdicken liegen in Abhängigkeit der Verhältnisse von Hexenyl- zu Hexylseitenketten zwischen 38,1 nm und 91,8 nm. Dabei findet ein signifikanter Anstieg der Schichtdicke mit steigendem Anteil vernetzbarer Gruppen im Polymer statt. Diese Tendenz ist auch für die entsprechenden Kompositbeschichtungen zu beobachten. Allerdings sind die Schichtdicken mit 22,1 nm bis 28,0 nm deutlich geringer als ohne die Einlagerung von Silberbromid. Die in Kapitel 7.2.2. beschriebene Einlagerung von Nanopartikeln in nicht vernetzbare Polymermatrices zeigte entgegengesetztes Verhalten. Eine Erklärung für die Abnahme der Schichtdicken von Nanopartikel-haltigen vernetzbaren Systemen im Vergleich zu den reinen Polymermatrices ist darin zu sehen, dass sich die Doppelbindungen aufgrund der eingelagerten Nanopartikel schwerer finden und damit weniger Vernetzungsreaktionen auftreten können.

Insgesamt hat sich unter den möglichen Parametern, welche die Schichtdicke des angebundenen Kompositmaterials beeinflussen können, der Anteil vernetzbarer Gruppen im Polymer als bestimmend herausgestellt. Entscheidend ist neben dem Anteil vernetzbarer Gruppen aber auch das Ausmaß der von ihnen eingegangenen Vernetzungsreaktion. Um diesen Faktor bewerten zu können, wurde an einer ausgewählten Polymermatrix der Einfluß der Temperzeit und damit des Ausmaßes der Vernetzungsreaktion untersucht. Die Bestimmung der Schichtdicken nach 24, 48 und 72 Stunden zeigt eine deutliche Abhängigkeit zwischen Temperzeit und Schichtdicke (Tabelle 7-18). Neben dem Anteil vernetzbarer Gruppen im Polymer stellt somit die Temperzeit einen weiteren Parameter zur Beeinflussung der Schichtdicke dar.

**Tabelle 7-18:** Einfluss der Temperzeit auf die Schichtdicke einer vernetzbaren Polymermatrix

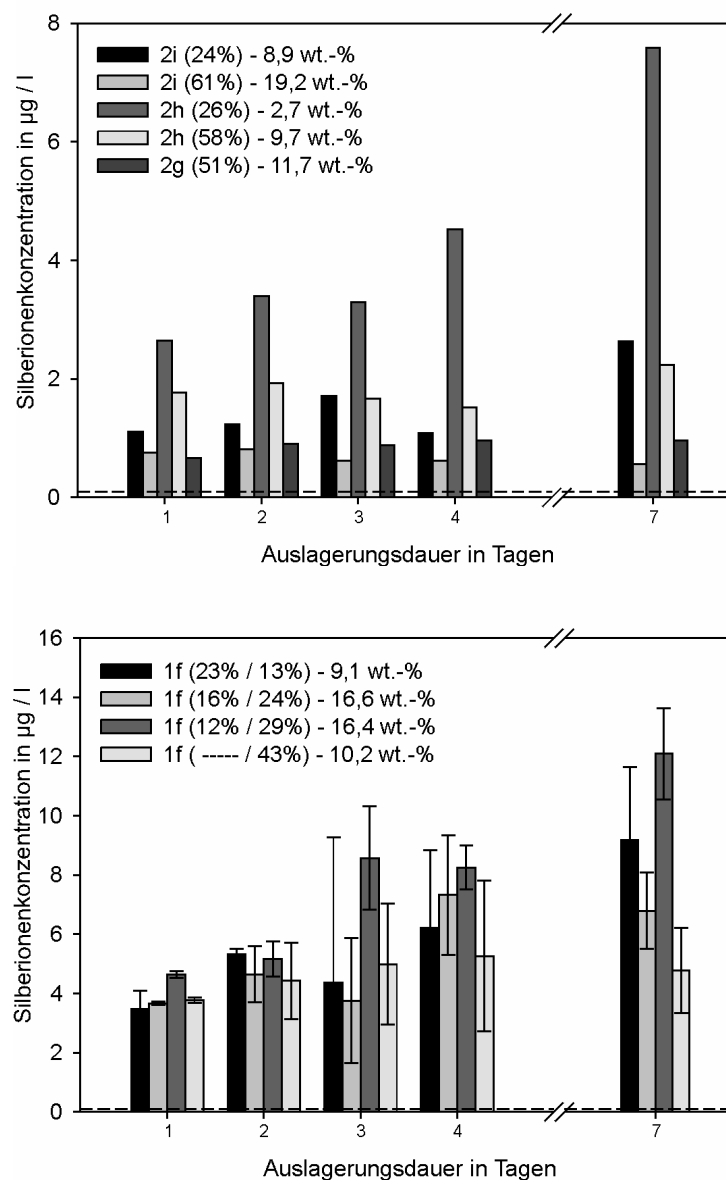
Temperzeit in Std.	Schichtdicke in nm
24	11,8 ± 4,6
48	26,4 ± 4,1
72	37,7 ± 10,3

Zusammenfassend ist anhand der Kontaktwinkel- und Schichtdickenbestimmungen auf eine erfolgreiche Anbindung der Polymer- und Kompositsysteme zu schließen. Durch die deutlich erhöhten Schichtdicken im Vergleich zu nicht vernetzbaren Kompositsystemen und eine bessere Einlagerung von Silberbromid (Kapitel 6.4.2.) besitzt das vernetzbare System das Potential, größere Mengen von Silber auf Titan(oxid)oberflächen aufzubringen und damit bei späterer medizinischer Anwendung in die Umgebung freizusetzen. Die insgesamt im Vergleich zu den anderen Systemen deutlich erhöhten Schichtdicken sind allerdings mit einer Zunahme der Inhomogenität der Beschichtung verbunden, was sich in einem Anstieg der Standardabweichungen für Schichtdicken und Kontaktwinkel äußert.

#### 7.2.4. Untersuchung der Silberfreisetzung aus Kompositbeschichtungen

Grundlegende Anforderung an den Einsatz von Kompositmaterialien für die antimikrobielle Modifizierung von Oberflächen ist aus klinischer und materialwissenschaftlicher Sicht eine gleichmäßige und anhaltende Freisetzung von Silberionen innerhalb eines antimikrobiell wirksamen Konzentrationsbereichs. Um diese Eigenschaft zu gewährleisten, wurden alle im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelten Kompositbeschichtungen bei einer für die klinische Anwendung relevanten Temperatur von 37°C in Wasser ausgelagert. Die zeitabhängige, quantitative Bestimmung der aus den Beschichtungen freigesetzten Silberkonzentrationen erfolgte mittels Atomabsorptions-Spektroskopie (AAS). Um eine gleichmäßige Silberkonzentration innerhalb des wässrigen Mediums zu gewährleisten, wurden die Proben während der Freisetzungsstudien auf einem Schüttler gelagert. Nicht ausgeschlossen werden konnte hingegen eine Reduktion der freien Silberionen zu metallischem Silber, da dem Medium aus Gründen klinischer Relevanz keine Salpetersäure zugesetzt wurde.

Abbildung 7-6 zeigt den Konzentrationsbereich und die Zeitabhängigkeit der Silberfreisetzung aus nicht vernetzten (oben) und vernetzten (unten) Kompositbeschichtungen mit unterschiedlichen Silberbromid-Gehalten. Die Daten beziehen sich dabei auf die Silberfreisetzung aus einem mit Komposit beschichteten Probekörper von 13 mm Durchmesser und einem Volumen des umgebenden Mediums von 15 ml.



**Abbildung 7-6:** Freisetzung von Silberionen aus Kompositbeschichtungen mit unterschiedlichen Silberbromid-Gehalten als Funktion der Auslagerungsdauer. (Oben) nicht vernetzte Komposite; (unten) vernetzte Komposite. Die gestrichelte Linie entspricht der antimikrobiell wirksamen Silberionenkonzentration.

Insgesamt erzielen alle Komposite für den gesamten Untersuchungszeitraum Silberionenkonzentrationen deutlich oberhalb der unter realen Bedingungen erforderlichen bioziden Menge von  $0,1 \mu\text{g/l}$ .<sup>[126]</sup> Zudem ist allen Kompositen gemein, dass die ermittelten Silberionenkonzentrationen keine direkte Funktion der eingelagerten Silberbromid-Mengen darstellen. Dies wird insbesondere durch Komposit *2h* (26%) mit der schnellsten und insgesamt höchsten Silberfreisetzung innerhalb der unvernetzten Komposite, aber dem geringsten Silberbromid-Gehalt verdeutlicht. Die Silberionenkonzentration ist vielmehr das Resultat einer Kombination mehrerer, nicht voneinander abgrenzbarer Parameter. Hierzu können neben dem Silberbromid-Gehalt der Komposite die Polymerzusammensetzung und



damit das Quellungsverhalten, die Partikelgröße und die Schichtdicke zählen. Neben den beschriebenen Gemeinsamkeiten lassen sich aber auch Unterschiede zwischen dem vernetzten und dem nicht vernetzten System finden. Die Absolutwerte der Silberfreisetzung aus den nicht vernetzten Kompositen sind schwer reproduzierbar. Dies kann in einer ungleichmäßigen Verteilung der Silberbromid-Nanopartikel in den Polymermatrices oder in freigesetzten Silberkonzentrationen nur knapp oberhalb der AAS-Nachweisgrenze von etwa  $0,5 \mu\text{g/l}$  begründet liegen. Aus diesem Grund ist in Abbildung 7-6 ein repräsentativer Konzentrationsverlauf einer einzelnen Messreihe dargestellt. Insgesamt erzielen die vernetzten Komposite aufgrund quantitativer Silbereinlagerung (Kapitel 6.4.1.2.) und erhöhter Schichtdicken (Kapitel 7.2.3.) höhere Silberionenkonzentrationen als die nicht vernetzten Komposite. Zudem zeigen die Beschichtungen des vernetzten Systems über die Zeit der Auslagerung entweder einen kontinuierlichen Anstieg der Silberionenkonzentration oder einen initialen Anstieg mit anschließendem Erreichen eines Plateauwerts. Dieses Verhalten lässt auf eine kontinuierliche Freisetzung von Silber bis zur Erschöpfung des Komposits bzw. dem Einstellen eines Diffusionsgleichgewichts schließen. Die dem nicht vernetzten System zuzuordnenden Komposite *2i* (61%) und *2g* (51%) zeigen ein mit dem vernetzten System vergleichbares Verhalten. Allerdings erfolgt bereits nach 24 bzw. 48 Stunden eine Erschöpfung der Silberfreisetzung. Die anderen Komposite des nicht vernetzten Systems hingegen zeichnen sich durch eine Zunahme der Silberfreisetzung über die gesamte Auslagerungsdauer als Funktion der Zeit aus. Der Anstieg in der Silberionenkonzentration ist in Abhängigkeit des konkreten Komposits zwischen Tag 2 bzw. 3 und Tag 4 aber nur marginal bzw. gar nicht zu beobachten. Einen vergleichbaren Verlauf beschreiben KUMAR et al.<sup>[126]</sup> für die Freisetzung von Silberionen aus auf Polyamid basierenden Kompositen. Sie konnten nachweisen, dass parallel zu der Abnahme in der Silberfreisetzungsrate auch die Wasserdiffusion in das Material am geringsten ist. Die Freisetzung von Silber ist somit auch abhängig von der Wasserlöslichkeit der Polymermatrix bzw. die Diffusionsrate für Wasser kontrolliert die Silberfreisetzung. Nach KUMAR et al. stammen die initial freigesetzten Silberionen aus im Oberflächenbereich der Beschichtung lokalisierten Partikeln. Hier erfolgt eine unmittelbare Freisetzung, weil keine Diffusion von Silber durch das Material notwendig ist. Die Freisetzung von im Inneren der Beschichtung lokalisiertem Silber hingegen wird durch das Quellungsgleichgewicht des Polymers bestimmt. Aus diesem Grund kann für die Komposite *2i* (24%), *2h* (26%) und *2h* (58%) ein erneuter Anstieg der Freisetzungsrates von Silber an Tag 7 beobachtet werden. Die Wasserunlöslichkeit von zur Synthese nicht vernetzter Komposite eingesetztem Poly(hexyl-VP)-co-(VBP) und die gute Wasserlöslichkeit

von zur Synthese vernetzter Komposite eingesetztem Poly(hexyl-VP)-*co*-(DMMEP) erklärt weiterhin, warum die von KUMAR et al. beschriebene Kinetik der Silberfreisetzung nur für das erste System beobachtet werden kann.

Mit Blick auf die Ergebnisse der AAS-Untersuchungen stehen für die Evaluierung antimikrobieller Aktivität zwei Kompositsysteme zur Verfügung. Beide Systeme gewährleisten die Freisetzung von Silberionen innerhalb eines antimikrobiell wirksamen Konzentrationsbereichs, unterscheiden sich aber in der Freisetzungskinetik. Der unterschiedliche Einfluss von Freisetzungskinetik, erzielten Silberionenkonzentrationen und auch der dem jeweiligen Komposit zugrunde liegenden Polymermatrix auf das antimikrobielle Verhalten muss in den folgenden Untersuchungen bedacht werden.

## 8. Biokompatibilität und antimikrobielle Wirksamkeit

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung einer funktionellen Oberflächenbeschichtung, welche die Bildung eines Biofilms mit parodontalpathogenen Keimen verhindert ohne dabei zelltoxische Auswirkungen auf die Anlagerung der Gingiva zu zeigen. Diese Ansätze machen ein umfassendes Screening modifizierter und nicht modifizierter Oberflächen bezüglich antimikrobieller Aktivität und Biokompatibilität erforderlich.

### 8.1. Testsysteme und Methodik

Als erster Schritt erfolgte die Evaluierung der mikrobiellen Besiedlung beschichteter und unbeschichteter Titansubstrate unter in-vitro-Bedingungen. Dabei wurde zunächst die Anlagerung des in der menschlichen Mundhöhle auftretenden, repräsentativen oralen Keims *Streptococcus mutans* im Rahmen eines Screenings untersucht. Unter Verwendung entsprechender Färbemethoden wurden die Probekörper in Abhängigkeit von der Oberflächenmodifikation mittels konfokaler Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) auf Besiedlungsdichte und bakterielle Vitalität untersucht. Anhand dieser Untersuchungen wurden Polymerbeschichtungen identifiziert, die deutlich antimikrobielle Effekte zeigten. Zudem wurde für die Copolymerreihen von hexyl-VP mit VBP und mit DMMEP ein direkter Zusammenhang zwischen Polymerzusammensetzung und antimikrobieller Aktivität gefunden. In einem zweiten Schritt erfolgte für diese aus biomedizinischer Sicht interessanten Polymerbeschichtungen eine Untersuchung der Kompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten unter Verwendung einer statistisch relevanten Probenanzahl. Für eine Beurteilung der Biokompatibilität wurde die Interaktion von humanen Gingivafibroblasten mit den Materialoberflächen unter in-vitro-Bedingungen analysiert. Dabei wurden Adhäsion, Proliferation und Zellmorphologie der Fibroblasten betrachtet. Die Beurteilung von Zelladhäsion und -proliferation humaner Gingivafibroblasten wurde durch die Entwicklung eines speziell auf Oberflächen zugeschnittenen Verfahrens an der Medizinischen Hochschule Hannover optimiert. Bisher in der Literatur beschriebene Biokompatibilitätsuntersuchungen von insbesondere Poly(vinyl-N-alkylpyridiniumhalogeniden) basieren auf der Verwendung von Polymerlösungen und ermöglichen somit die Verwendung konventioneller in-vitro-Biokompatibilitätstests und Mikroskopietechniken.<sup>[93, 127, 128]</sup>

Biokompatibilitätsuntersuchungen, die sich generell mit der Anlagerung von humanen Gingivafibroblasten an Titanoberflächen beschäftigen, beschreiben konventionell den Einsatz von Fluoreszenzmikroskopie oder die Trypsinierung und Verwendung von Zählkammern für

eine Quantifizierung der Zellen.<sup>[129-131]</sup> Diese Methoden bergen allerdings wesentliche Nachteile. Beim fluoreszenzmikroskopischen Verfahren wird die Anzahl angelagerter Zellen nicht durch Untersuchung der gesamten Substratoberfläche, sondern durch die Auswahl zufälliger Teilbereiche berechnet. Zudem wird eine statistische Absicherung der ermittelten Zellzahlen durch die Beobachtungen erschwert, dass benachbarte Zellen nicht immer als Einzelzellen aufgelöst werden, selten eine gleichmäßige Besiedlungsdichte gewährleistet ist und sich durch die erforderliche Behandlung unter Umständen größere Mengen an Zellen ablösen und verloren gehen. Im Gegensatz dazu kann mittels Trypsinierung zwar die Gesamtfläche einer Probe beurteilt werden, allerdings gestaltet sich die hier erforderliche Gewährleistung der gleichzeitigen und zerstörungsfreien Ablösung aller Zellen schwierig. Zudem tendiert die bei geringer Besiedlungsdichte ermittelte Zellzahl in den Zählkammern schnell gegen Null, was eine hohe Standardabweichung mit entsprechend schlechter statistischer Vergleichbarkeit von Proben nach sich zieht. Von der medizinischen Hochschule Hannover wurde aus diesen Gründen der Ansatz gewählt, die Anzahl der an Substraten fest angelagerten Zellen über die Gesamt-Laktatdehydrogenase-Aktivität zu bestimmen. Das Enzym Laktatdehydrogenase (LDH) ist in intakten Zellen in vergleichbaren Konzentrationen im Zytoplasma lokalisiert und ein Austritt aus den Zellen wird durch intakte Zellmembranen unterbunden. Eine Membran-schädigung der Zellen jedoch führt zu einer verstärkten Freisetzung zytoplasmatischer Bestandteile und somit zu einer Anreicherung des relativ stabilen Enzyms LDH im umgebenden Medium.<sup>[132]</sup> Daher finden LDH-Assays bisher hauptsächlich in der Beurteilung von Zellviabilitäten einer zuvor definierten Anzahl von Zellen durch quantitative Bestimmung des durch Membranschädigung freigesetzten LDHs Einsatz.<sup>[133]</sup> Bei dem an der Medizinischen Hochschule Hannover entwickelten System wurde im Gegensatz dazu über die intrazelluläre LDH-Aktivität aller adhärenen Zellen auf die Zellzahl geschlossen, die im Vergleich zu einer Kontrolle auf einer modifizierten Oberfläche anbinden konnte.<sup>[103]</sup> Dazu wurden die angelagerten Zellen nach einer definierten Inkubationsdauer gezielt lysiert und somit das LDH aus den Zellen freigesetzt. Durch Messen der LDH-Aktivität wurde dann anhand zuvor erstellter Standardkurven auf die entsprechende Zahl adhärenen Zellen rückgeschlossen. Diese Vorgehensweise ist möglich, weil die resultierende LDH-Konzentration in jeder Zelle in vergleichbaren Mengen vorliegt, nicht durch den Zellmetabolismus beeinflusst wird und somit proportional zu der Gesamtzahl der adhärenen Gingivafibroblasten ist. Die Zahl adhärenen Zellen wurde nach 24stündiger und nach 72stündiger Inkubation bestimmt. Ein Vergleich der beiden Zeitpunkte ermöglichte Rückschlüsse auf die oberflächenabhängige Proliferationsrate. Neben Zelladhäsion und

-proliferation wurde zur Beurteilung der Biokompatibilität auch die Zellmorphologie herangezogen. Unter idealen Wachstumsbedingungen ist eine polygone Zellmorphologie zu erwarten. Sind die Oberflächen jedoch nicht ideal zur Zelladhäsion geeignet, so bilden sich runde Zellen aus. Um die Zellmorphologie der Fibroblasten auf den unterschiedlichen Beschichtungen veranschaulichen zu können, wurde Rasterelektronenmikroskopie eingesetzt und Aufnahmen in verschiedenen Vergrößerungen erzeugt. Insgesamt zeigte eine Polymerbeschichtung im Rahmen der Untersuchungen auf antimikrobielle Wirksamkeit und auf Kompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten sowohl eine signifikante antimikrobielle Aktivität als auch zufriedenstellende Biokompatibilität. Für diese Beschichtung wurden hinsichtlich der antimikrobiellen Wirksamkeit über das Screening unter Verwendung von *Streptococcus mutans* hinausgehende Untersuchungen durchgeführt.

Parallel zu den beschriebenen Untersuchungen an Einzelkeimen und humanen Gingivafibroblasten wurde am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig ein in-vitro-Modell für die Analyse von komplexen Biofilmgemeinschaften auf Substratoberflächen etabliert. Dieses ermöglichte über die Untersuchungen an der medizinischen Hochschule Hannover hinausgehend eine vergleichende Analyse der Biofilmbesiedlung und -zusammensetzung auf unterschiedlichen Oberflächenmodifikationen. Das Verfahren beinhaltete die simultane Bildung von Biofilmen auf mit unterschiedlichen Polymerbeschichtungen funktionalisierten Oberflächen, wobei ein Inokulum von Zahnabstrichen benutzt wurde. Dabei wurde zum einen gewährleistet, dass es sich um natürliche Biofilm-Gemeinschaften der menschlichen Zahnflora handelte, und zum anderen, dass alle Substrate einem identischen Inokulum ausgesetzt wurden.

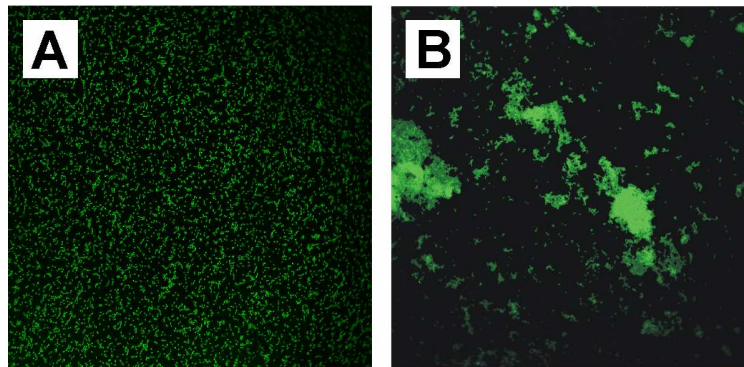
## **8.2. Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit**

Das initiale Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit umfasste für alle untersuchten Substrate folgende Schritte: Aussaat von *Streptococcus mutans* mit einer definierten Zelldichte, Inkubation der Proben bei 37°C, Fixierung adhärenter Bakterien unter Verwendung von Glutaraldehyd und schließlich die Anfärbung der Zellen. Dabei wurden in Abhängigkeit der untersuchten Polymerbeschichtungen die Parameter Inkubationsdauer und Färbemethode variiert. Potentiell kontaktbakterizide Homo- und Copolymere von hexyl-PVP und Phosphonaten wurden für eine Dauer von einer Stunde inkubiert, wohingegen die Inkubationszeit für silberhaltige Composite und deren entsprechenden Polymermatrices 72 Stunden betrug. Diese Zeitspanne wurde gewählt, um eine Freisetzung von Silberionen

aus dem Komposit sicherzustellen. Wurde bei der Untersuchung von Homo- und Copolymeren von hexyl-PVP und Phosphonaten noch eine Anfärbung der adhärenen Bakterien mit Acridinorange vorgenommen, so erfolgte bei der Untersuchung von silberhaltigen Kompositen und den entsprechenden Polymermatrices eine Anfärbung mit Syto 9 und Propidiumiodid. Diese Methode ermöglicht eine Unterscheidung von lebenden und toten Bakterienzellen, da tote Zellen durch die Färbereagenzien rot fluoreszieren, wohingegen lebende Zellen eine grüne Fluoreszenz zeigen.

### 8.2.1. Ergebnisse des Screenings potentiell kontaktbakterizider Oberflächen

Im Vergleich zu Titan ist der auf mit hexyl-PVP beschichteten Substratoberflächen beobachtete Bakterienbewuchs deutlich ungleichmäßiger (Abbildung 8-1).



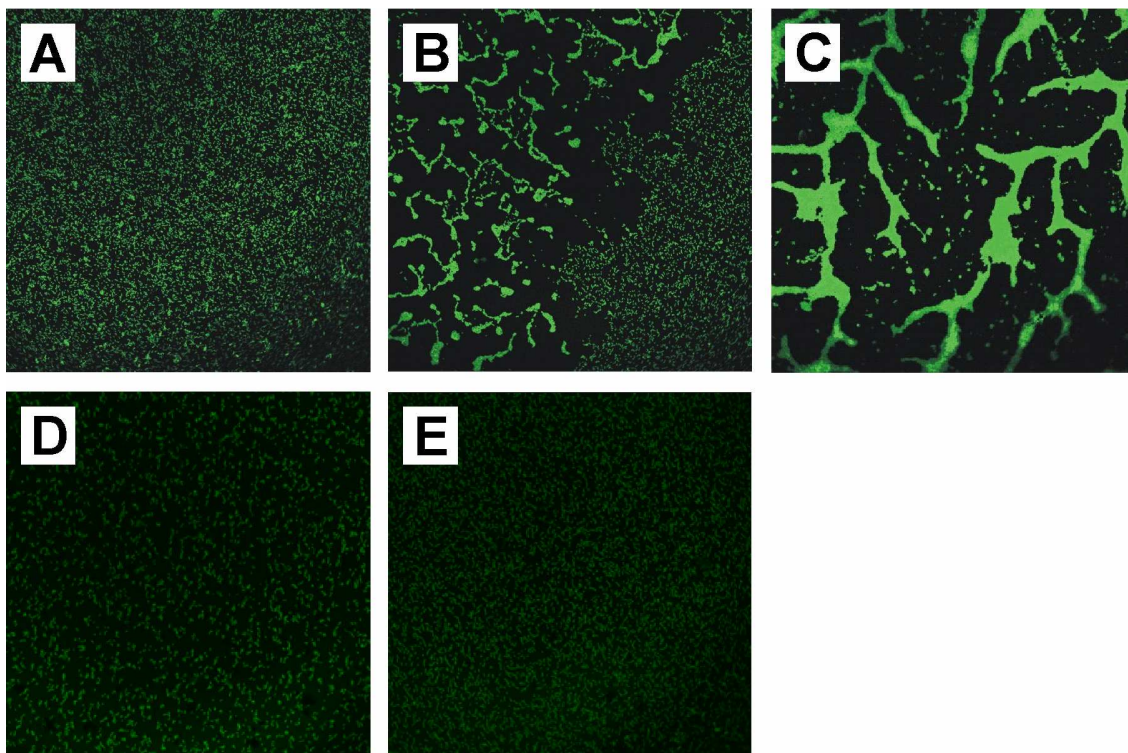
**Abbildung 8-1:** Verteilung der initial angelagerten Bakterien auf (A) Titan (Referenz), (B) hexyl-PVP<sup>5</sup>

Anstelle gleichmäßiger bakterieller Verteilung tritt eine deutliche Aggregation der Bakterienzellen auf. Innerhalb dieser Aggregate ist ein mehrschichtiges Wachstum zu erkennen, das eine damit einhergehende verstärkte Matrixproduktion vermuten lässt. Da hexyl-PVP in der Literatur als bakteriozid beschrieben wird,<sup>[11, 12]</sup> ist die Aggregatbildung vermutlich auf bakteriellen Stress zurückzuführen und stellt für die Bakterien eine Möglichkeit dar, den Kontakt zur Oberfläche zu minimieren. Es ist aber keine wie in der Literatur beschriebene signifikante Unterdrückung der Bakterienadhäsion durch die Polymerbeschichtung zu beobachten. Eine mögliche Ursache ist in der in Kapitel 7.1.2.1. diskutierten schlechten photochemischen Anbindbarkeit von hexyl-PVP zu sehen. Die mittels Ellipsometrie bestimmten Filmdicken des aufgetragenen hexyl-PVP sprechen für sehr geringe Schichten und die erhaltenen Werte stellen zudem ein Mittel über eine Fläche von ca. 1 x 2 mm dar. Aus diesen Gründen kann die beobachtete fleckenartige Bakterienaggregation neben bakteriellem Stress auch inhomogen beschichtete Oberflächen als Ursache

<sup>5</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

haben. In diesem Fall ist die Anlagerung von Bakterien auf nicht vollständig mit hexyl-PVP beschichtete Bereiche zurückzuführen, wohingegen mit hexyl-PVP beschichtete Bereiche eine Bakterienanlagerung unterdrücken.

Neben mit hexyl-PVP beschichteten Oberflächen zeigen auch die mit Copolymeren von hexyl-VP und VBP sowie mit dem Homopolymer von VBP beschichteten Oberflächen für mindestens eines der untersuchten Polymere deutliche Auswirkungen auf die Bakterienadhäsion (Abbildung 8-2).



**Abbildung 8-2:** Verteilung der initial angelagerten Bakterien auf (A) Polymer *2f*, (B) Polymer *2d*, (C) Polymer *2c*, (D) Polymer *2b*, (E) PolyVBP; geordnet nach steigendem VBP-Gehalt<sup>6</sup>

Copolymerbeschichtungen mit einem VBP-Gehalt von 22 mol-% (*2f*) bzw. 32 mol-% (*2e*) weisen im Vergleich zu Titan eine leichte, aber nicht signifikante Konzentration der Keime in Gruppen in Form von Fleckenbildung auf der Substratoberfläche auf. Steigt der VBP-Gehalt auf 40 mol-% (*2d*), so zeigen die Bakterien auf Teilbereichen der Substrate eine Straßenbildung. Gleichzeitig sind aber auch Bereiche gleichmäßiger Bakterienverteilung zu beobachten. Deutlich ausgeprägt und über die gesamte Oberfläche verteilt gestaltet sich die Straßenbildung bei Polymerbeschichtungen mit einem VBP-Gehalt von 51 mol-% (*2c*). Dabei ist die optische Erscheinung der ausgebildeten Straßen mit den durch BUCOLO et al.<sup>[134]</sup> und

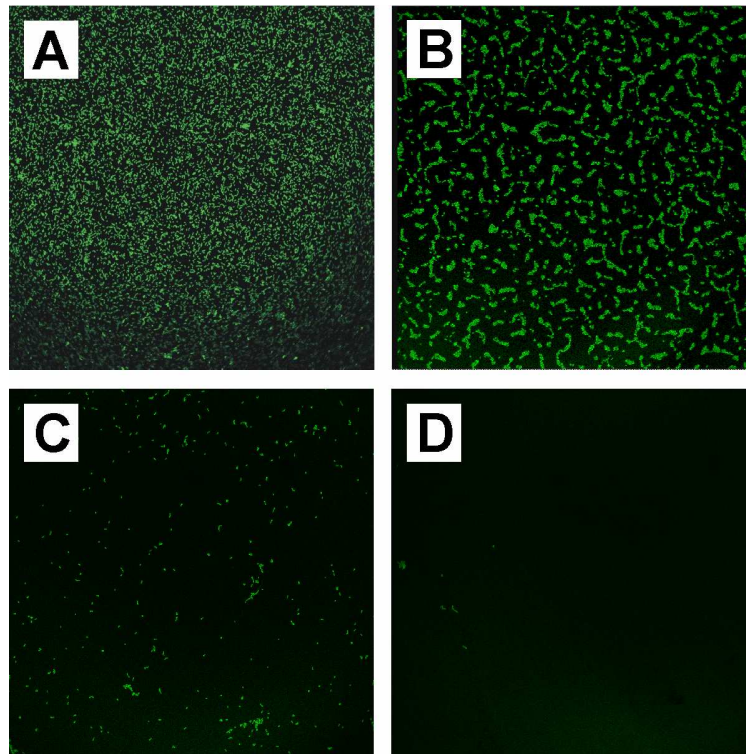
<sup>6</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

durch CARATOZZOLO et al.<sup>[135]</sup> berichteten bakteriellen Aggregationszuständen auf plasma-behandelten Polymeroberflächen bzw. unter unterschiedlichen Wachstumsbedingungen identisch. Da die von den Autoren verwendeten Oberflächen als unattraktiv für Bakterienadhäsion bekannt sind, lässt die Ausbildung identischer Strukturen auf mit Polymer 2c beschichtetem Titan auf eine für Bakterienanlagerung unattraktive Oberflächenbeschichtung schließen.

Da sich bis zu einem Anteil von 51 mol-% die Form der bakteriellen Anlagerung mit steigendem VBP-Gehalt von einer leichten Konzentration der Keime in Gruppen über eine partielle Straßenbildung bis hin zu einer deutlich ausgeprägten Straßenbildung gestaltet, ist für Polymerbeschichtungen mit einem weiter erhöhten VBP-Gehalt eine Verstärkung der Effekte auf die bakterielle Verteilung zu erwarten. Diese Erwartung kann durch das Screening auf antimikrobielle Aktivität allerdings nicht bestätigt werden. Polymerbeschichtungen mit einem VBP-Gehalt von 80 mol-% (2b) bzw. 90 mol-% (2a) ebenso wie das Homopolymer von VBP zeigen eine mit Titan vergleichbare Bakterienanlagerung. Insgesamt zeigt sich, dass durch eine Copolymerisation von hexyl-VP mit VBP deutlich Einfluss auf die Eigenschaften der resultierenden Oberflächenbeschichtungen genommen werden kann. Für das vorliegende System besteht aber keine klare Abhängigkeit zwischen Polymerzusammensetzung und Einfluß auf die bakterielle Verteilung. Es läßt sich dennoch die Aussage treffen, dass in den Copolymeren sowohl hohe hexyl-VP als auch hohe VBP-Gehalte im Vergleich zu Titan keinen signifikanten Einfluss auf die Bakterienadhäsion ausüben, eine bestimmte Kombination beider Monomere hingegen schon. Im Wesentlichen aber konzentrieren sich alle beobachteten Veränderungen in der Bakterienadhäsion auf eine Ausbildung unterschiedlicher Aggregationsformen. Eine signifikante Reduktion adhärenter Keime wird nicht beobachtet.

Im Gegensatz zu den für das Copolymersystem aus hexyl-VP und VBP gemachten Beobachtungen zeigen die Copolymere von hexyl-VP und DMMEP sowie das Homopolymer von DMMEP einen eindeutigen Zusammenhang zwischen Polymerzusammensetzung und Bakterienanlagerung. Mit steigendem DMMEP-Gehalt in der Polymerbeschichtung wechselt das Erscheinungsbild der bakteriellen Adhäsion von gleichmäßiger Verteilung zu fast vollständiger Unterdrückung der Anlagerung. Bis zu einem DMMEP-Gehalt von 40 mol-% (Polymere 1c bis 1e) zeigen die Beschichtungen im Vergleich zu Titan keinen signifikanten Einfluss auf die bakterielle Adhäsion (Abbildung 8-3). Die einzelnen Bakterienzellen oder auch kurzen Ketten liegen auf der gesamten Oberfläche gleichmäßig verteilt und mit vergleichbarer Dichte vor.





**Abbildung 8-3:** Verteilung der initial angelagerten Bakterien auf (A) Polymer *1e*, (B) Polymer *1b*, (C) Polymer *1a*, (D) PolyDMMEP; geordnet nach steigendem DMMEP-Gehalt<sup>7</sup>

Erste Effekte auf die Keimverteilung sind für die Beschichtung mit Polymer *1b* mit einem DMMEP-Gehalt von 60 mol-% zu beobachten. Die Bakterienzellen zeigen eine bereits für Polymer *2c* diskutierte Muster- bzw. Straßenbildung, die teilweise aus komplexen Strukturen besteht und auf zunehmenden bakteriellen Stress zurückzuführen ist. Diese Form der Aggregation resultiert aber nicht in einer eindeutigen Änderung der Anzahl adhärenter Bakterien. Eine signifikante Reduktion adhärenter Zellen wird erst bei einer Zunahme des DMMEP-Gehalts im Polymer auf 76 mol-% und mehr (Polymer *1a* und PolyDMMEP) beobachtet. Zeigt bereits das untersuchte Copolymer *1a* nur noch vereinzelte Bakterien auf der beschichteten Oberfläche, so führt das Homopolymer von DMMEP zu einer vollständigen Unterdrückung der Bakterienanlagerung. Damit stellen Copolymer *1a* und PolyDMMEP im Hinblick auf eine Verhinderung der Adhäsion von Bakterien vielversprechende Polymerbeschichtungen für die dentale Anwendung dar.

Die beim Screening potentiell kontaktbakterizider Oberflächen für die Copolymerbeschichtungen von hexyl-VP und VBP bzw. DMMEP beschriebene antimikrobielle Aktivität zeigt Parallelen mit den Ergebnissen der Untersuchungen der Arbeitsgruppe um YOUNGBLOOD.<sup>[136, 137]</sup> Diese beschäftigte sich mit der antimikrobiellen Aktivität von

<sup>7</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

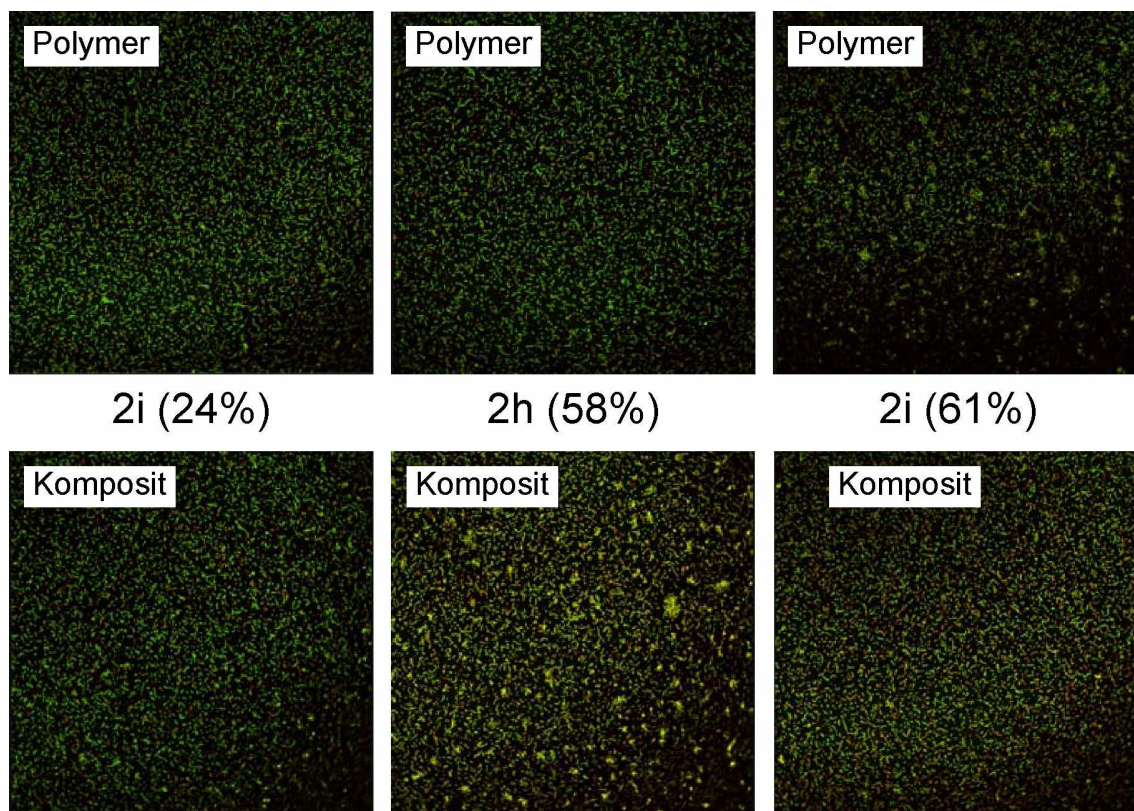
hexyl-VP-haltigen Polymeren in Lösung. Dabei untersuchten sie sowohl den Einfluss durch Copolymerisation mit unterschiedlichen biokompatiblen Monomeren<sup>[137]</sup> wie auch durch Austausch der antimikrobiell aktiven Monomereinheit.<sup>[136]</sup> Ein Vergleich der antimikrobiellen Aktivitäten von Copolymeren von 4-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid mit Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), Polyethylenglykolphosphat (PEGMA) 300 und 1100 zeigte bei der Verwendung von HEMA und PEGMA 300 ähnliche Ergebnisse. Für beide Copolymer-systeme wurde bei geringen Anteilen des biokompatiblen Monomers in der Polymerkette eine optimale antimikrobielle Aktivität beobachtet. Copolymere mit einem PEGMA 300-Gehalt von 1, 10 und 25 mol-% wiesen eine mit hexyl-PVP vergleichbare, Copolymere mit einem HEMA-Gehalt von 5 bzw. 10 mol-% sogar eine verbesserte antimikrobielle Wirksamkeit auf. Bei dem Einsatz von PEGMA 1100 zeigten sowohl Copolymere mit einem PEGMA 1100-Gehalt von 1 mol-% als auch von 75 und 90 mol-% eine mit hexyl-PVP vergleichbare Aktivität.<sup>[137]</sup> Insgesamt wird wie für das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Copolymersystem von hexyl-VP und VBP durch bestimmte Kombinationen eines antimikrobiell aktiven Monomers und eines biokompatiblen Monomers ein signifikanter Einfluss auf die antimikrobielle Wirksamkeit des Polymers beobachtet. Eine mit dem Copolymersystem von hexyl-VP und DMMEP vergleichbare Abhängigkeit beschreiben STRATTON et al. für den Austausch von 4-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid gegen 2-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid bei der Copolymerisation mit PEGMA 300 und 1100, also der Variation der antimikrobiell aktiven Monomereinheit. Hier zeigt sich ein Anstieg in der antimikrobiellen Aktivität mit Zunahme des Anteils von 2-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid im Copolymer.<sup>[136]</sup> Dieses Ergebnis ist insoweit auf das Copolymersystem von hexyl-VP und DMMEP übertragbar, als dass DMMEP sich nicht als biokompatibel, wohl aber die Anlagerung von Bakterien unterdrückend charakterisieren lässt. Die Ursachen der von ihnen beobachteten Abhängigkeiten zwischen Copolymerzusammensetzungen und antimikrobieller Aktivität sehen STRATTON et al. in einer Balance zwischen Wasserlöslichkeit und Anteil antimikrobiell aktiver Gruppen im Polymer begründet. Zudem führt nach STRATTON et al. das Einbringen sterischer Hinderung zu einer Verbesserung der antimikrobiellen Aktivität.

### 8.2.2. Ergebnisse des Screenings silberhaltiger Oberflächen

Die im Rahmen eines Screenings auf antimikrobielle Wirksamkeit untersuchten silberhaltigen Polymerbeschichtungen umfassen sowohl die auf Basis nicht thermisch vernetzbarer Polymere als auch die auf Basis thermisch vernetzbarer Polymere beruhenden Systeme (Kapitel 4.). In beiden Fällen wurden neben den silberhaltigen Beschichtungen auch

die reinen Polymermatrices untersucht, um Aussagen über die kontaktbakteriziden Eigenschaften der eingesetzten Materialien treffen zu können.

Im Rahmen der Untersuchung nicht thermisch vernetzbarer Systeme wurden die Polymermatrices bzw. Komposite *2h* (26%), *2h* (58%), *2i* (24%) und *2i* (61%) eingesetzt. Sowohl die reinen Matrices als auch die Komposite zeigen für die Polymere *2h* (26%) und *2i* (24%) eine für *2i* (24%) in Abbildung 8-4 dargestellte, mit Titan vergleichbare Besiedlungsdichte mit gleichmäßiger Verteilung (Abbildung 8-4).



**Abbildung 8-4:** Verteilung der nach 72ständiger Inkubation angelagerten Bakterien auf (links) Polymer und Komposit *2i* (24%), (mitte) Polymer und Komposit *2h* (58%), (rechts) Polymer und Komposit *2i* (61%). Polymer- und Kompositbezeichnungen nach Tabelle 6-7. Der in Klammern angegebene Wert steht für den N-Alkylierungsgrad mit 1-Bromhexan.<sup>8</sup>

Die Anfärbung mit Syto 9 und Propidiumiodid zeigt lediglich grüne Fluoreszenz, was auf lebende Bakterien an der Substratoberfläche schließen lässt. Die Beschichtungen besitzen somit weder kontaktbakterizide noch durch Silberfreisetzung bedingte antimikrobielle Eigenschaften. Im Vergleich hierzu zeigt die Beschichtung *2i* (61%) sowohl mit als auch ohne Silberbromideinlagerung eine fleckenartige Gruppierung der Keime. Bei Beschichtung *2h* (58%) tritt dieses Erscheinungsbild lediglich nach Einlagerung von Silberbromid auf, das reine Polymer zeigt eine mit Titan vergleichbare Bakterienverteilung. Neben einer

<sup>8</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

Gruppierung der Keime ist für die beiden silberhaltigen Beschichtungen zudem eine gelbliche bis teilweise auch rötliche Fluoreszenz auszumachen. Diese Beobachtung kann das Einsetzen bakterienschädigender Wirkung oder die Überlagerung an der Oberfläche abgetöteter durch lebende Keime als Ursache haben.

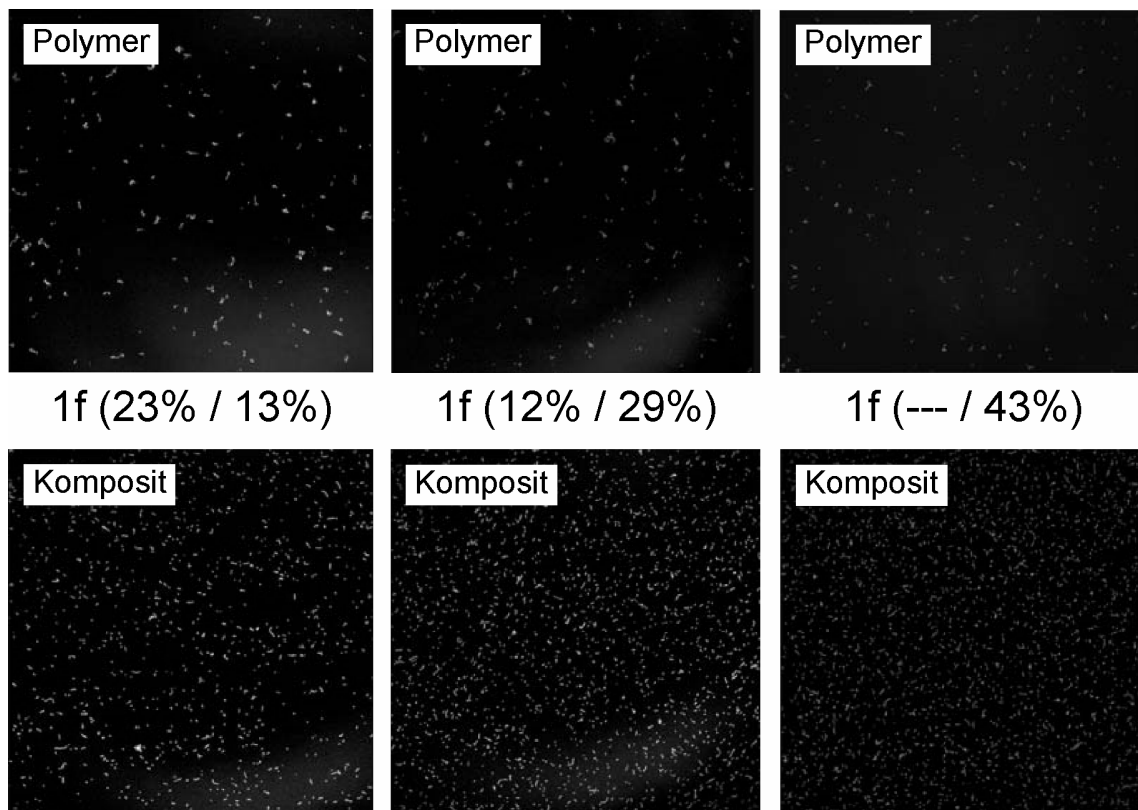
Eine Betrachtung des untersuchten Systems hinsichtlich Struktur-Wirkungsprinzipien macht insgesamt deutlich, dass sowohl innerhalb der Polymermatrices als auch innerhalb der Kompositmaterialien lediglich die Beschichtungen mit einem hohen Alkylierungsgrad (58 mol-% bzw. 61 mol-%) Auswirkungen auf die Bakterienadhäsion haben. Dabei treten die Auswirkungen bei Polymer *2h* (58%) erst nach Einlagerung von Silberbromid ein. Diese beiden Beobachtungen machen zum einen deutlich, dass die kontaktbakterizide Eigenschaft der Polymermatrix einen gewissen N-Alkylierungsgrad erfordert. Zum anderen führt die Einlagerung von Silberbromid in eine Polymermatrix, die keine Auswirkungen auf die Bakterienadhäsion zeigt, zu Effekten in Keimverteilung und –erscheinungsbild, die zumindest auf einen negativen Einfluss auf die Bakterienadhäsion schließen lassen. Diese Effekte steigen innerhalb der Kompositmaterialien mit steigendem N-Alkylierungsgrad und damit verbunden mit steigendem Silberbromid-Gehalt, da das Verhältnis von Silberionen zu im Polymer enthaltenen Bromidionen für alle Umsetzungen 1:1 beträgt (Kapitel 6.4.1.). Neben dem Gehalt an Silberbromid im Kompositmaterial kann aber auch die Partikelverteilung für die beobachteten Auswirkungen auf die Bakterienadhäsion verantwortlich gemacht werden. Mit steigendem Silberbromid-Gehalt steigt auch die Anzahl an eingelagerten Partikeln, wobei zusätzlich der Durchmesser der Partikel von Komposit *2h* (26%) und *2i* (24%) zu Komposit *2h* (58%) und *2i* (61%) deutlich abnimmt (Tabelle 7-11).

Sind insgesamt zwar gewisse Tendenzen und Zusammenhänge anhand des Screenings auf antimikrobielle Wirksamkeit ableitbar, so findet dennoch keine Reduktion der adhärenen Zellen statt und die antimikrobielle Aktivität der untersuchten Beschichtungen ist nicht zufrieden stellend. Da die Beschichtungen aber laut AAS-Untersuchungen innerhalb von 72 Stunden Silberionen-Konzentrationen oberhalb der antimikrobiellen Wirksamkeit freisetzen (Kapitel 7.2.3.), bleibt zu klären, ob die Unzulänglichkeiten in den Beschichtungsmaterialien selbst oder vielmehr in der verwendeten Testmethode begründet liegen.

Im Rahmen der Untersuchung thermisch vernetzbarer Systeme zeigen sowohl die Polymermatrices als auch die Komposite im Vergleich zu dem im vorherigen Absatz diskutierten nicht thermisch vernetzbaren System deutlich ausgeprägtere antimikrobielle Effekte. Für das Screening auf antimikrobielle Aktivität wurden alle in Tabelle 6-8 und 6-10

aufgeführten und in Kapitel 6.4.1.2. diskutierten Polymere und Komposite eingesetzt. Da *If* (16% / 24%) und *If* (12% / 29%) identisches Verhalten zeigten, wird im Folgenden nur auf eine der beiden Beschichtungen Bezug genommen.

Die in Abbildung 8-5 dargestellte Keimverteilung zeigt für alle Komposite und insbesondere für alle Polymermatrices eine signifikante Reduktion adhärenter Zellen.



**Abbildung 8-5:** Verteilung der nach 72stündiger Inkubation angelagerten Bakterien auf (links) Polymer und Komposit *If* (23% / 13%), (mitte) Polymer und Komposit *If* (12% / 29%), (rechts) Polymer und Komposit *If* (--- / 43%). Polymer- und Kompositbezeichnungen nach Tabelle 6-8 und Tabelle 6-10. Die in Klammern angegebenen Werte stehen für den N-Alkylierungsgrad mit 1-Bromhexan und den N-Alkylierungsgrad mit 6-Brom-1-hexen.<sup>9</sup>

Weist bereits Polymerbeschichtung *If* (23% / 13%) nur noch vereinzelte Bakterien auf, so ist die Adhäsion für *If* (12% / 29%) nochmals deutlich reduziert und *If* (--- / 43%) führt zu einer vollständigen Unterdrückung der Bakterienanlagerung. Anders als bei den thermisch nicht vernetzbaren Polymermatrices ist für das vorliegende System mit einem Gesamtalkylierungsgrad von 40 mol-% kein N-Alkylierungsgrad  $\geq 60$  mol-% Voraussetzung, um Einfluss auf die bakterielle Adhäsion zu nehmen. Dies muss dem Einsatz von Bromhexen als Alkylierungsreagenz zugeschrieben werden. Dafür spricht ebenfalls die Tatsache, dass basierend auf einem nahezu identischen Gesamtalkylierungsgrad der untersuchten Polymere ein Anstieg im eingesetzten Bromhexenanteil mit einer Zunahme antimikrobieller Aktivität verbunden ist.

<sup>9</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover



Diese Abhängigkeit widerlegt zumindest für das hier diskutierte System den von KAWABATA et al. beobachteten, durch Vernetzungsreaktion hervorgerufenen Verlust antimikrobieller Aktivität von 4-Vinylpyridiniumbromidhaltigen Polymeren.<sup>[60]</sup> Vielmehr nimmt die antimikrobielle Wirksamkeit der Polymermatrices mit Anteil vernetzbarer Gruppen und Ausmaß der Vernetzungsreaktion zu. Dabei kann die antimikrobielle Aktivität nicht auf eine unvollständige Umsetzung der Doppelbindungen während der Vernetzungsreaktion (Kapitel 7.2.3.) und damit auf Hexenylgruppen im Polymer zurückgeführt werden, da das Ausmaß der Vernetzungsreaktion für die Komposite geringer ist als für die jeweiligen Polymermatrices. Würde die antimikrobielle Aktivität auf nicht umgesetzten Hexenylgruppen beruhen, wäre für die Komposite eine höhere antimikrobielle Aktivität zu erwarten als für die Polymermatrices. Abbildung 8-5 zeigt für die Kompositbeschichtungen aber eine ausgeprägtere Bakterienanlagerung, wobei alle untersuchten Kompositbeschichtungen eine Bakterienadhäsion vergleichbaren Ausmaßes aufweisen.

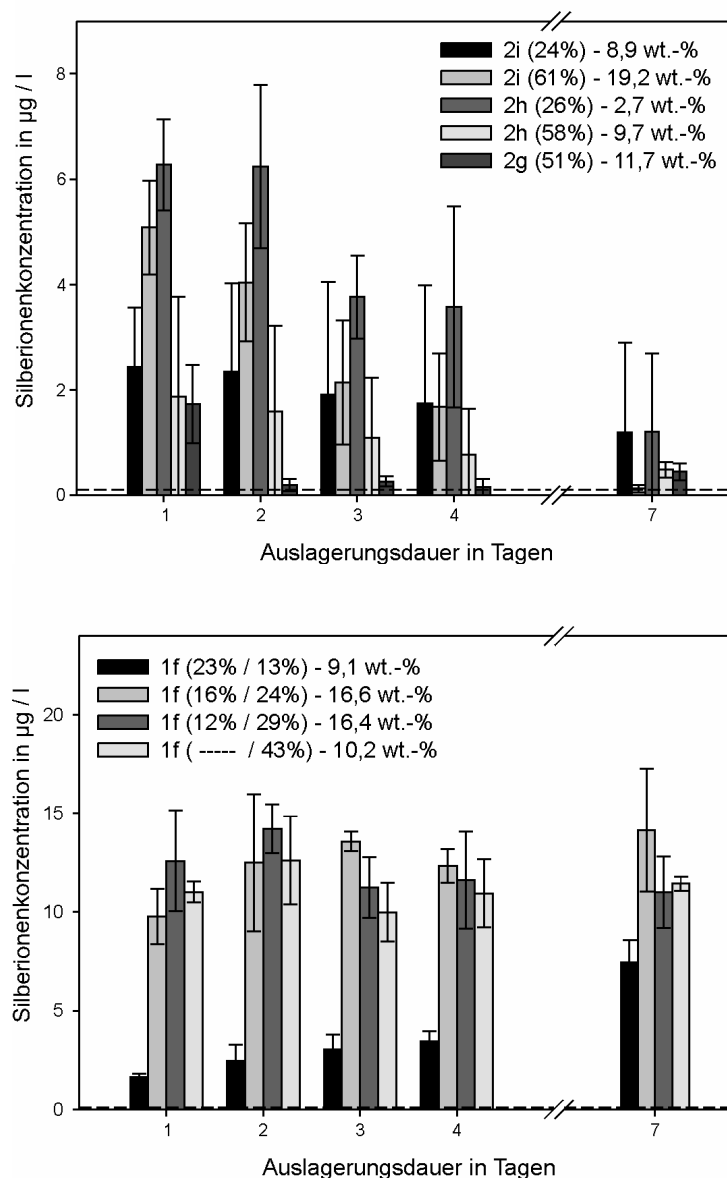
Auffällig innerhalb der Komposite ist ein Anstieg des Totanteils adhärenter Keime mit steigendem Gehalt vernetzbarer Gruppen im Polymer. Der Zusammenhang zwischen dem Anteil vernetzbarer Gruppen im Komposit und dem auf der Oberfläche beobachtetem Totanteil adhärenter Keime ist der einzige direkte Zusammenhang möglicher Parameter. Weder Silberbromid-Gehalt der Kompositbeschichtungen noch die Größe der eingelagerten Partikel ermöglichen eine Erklärung des beschriebenen antimikrobiellen Verhaltens. So zeigt bei vergleichbaren Schichtdicken aller Komposite (Tabelle 7-17) *If*(--- / 43%) mit den größten eingelagerten Silberbromid-Partikeln bzw. Aggregaten und einem mittleren Silberbromid-Gehalt die ausgeprägteste antimikrobielle Wirkung. Zusammenfassend ist für das vorliegende System zwar insgesamt eine deutlich höhere antimikrobielle Aktivität beobachtet worden als für das thermisch nicht vernetzbare System, die antimikrobielle Aktivität scheint aber im Wesentlichen auf die eingesetzten Polymermatrices zu beruhen. Ein direkter Effekt des durch die Komposite freigesetzten Silbers ist auch hier nicht auszumachen und die Frage nach der Unzulänglichkeit der eingesetzten Testmethode bleibt bestehen.

### **8.2.3. Untersuchung der Silberfreisetzung in TRIS-gepuffertem Medium**

Die Auslagerungsbedingungen für die mit silberhaltigen Kompositbeschichtungen versehenen Substrate während des Screenings auf antimikrobielle Wirksamkeit unterscheiden sich von den Auslagerungsbedingungen zur Untersuchung der Silberfreisetzung mittels AAS. Bei den AAS-Untersuchungen wurde Wasser als umgebendes Medium eingesetzt, bei dem Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit aus mikrobiologischen Gründen hingegen ein

Tris(hydroxymethyl)aminomethan-haltiger Puffer (TRIS-Puffer). Aus diesem Grund kann die beobachtete antimikrobielle Inaktivität des durch die Komposite freigesetzten Silbers in einer durch das Medium veränderten Freisetzungskinetik oder in Wechselwirkungen zwischen Silberionen und Bestandteilen der Pufferlösung begründet liegen. Um diesen möglichen Zusammenhang zu klären, wurde neben der in Kapitel 7.2.3. ausgeführten Untersuchung der Freisetzung von Silberionen im Rahmen der Auslagerung in Wasser unter gleichen Bedingungen die Freisetzung bei Auslagerung in TRIS-Pufferlösung betrachtet.

Abbildung 8-6 zeigt lediglich für die vernetzten Komposite *If* (16% / 24%) und *If* (--- / 43%) ein mit den bei der Auslagerung in Wasser gemachten Beobachtungen vereinbares Verhalten. Unter der Annahme eines besseren Quellungsvermögens der Komposite in der Pufferlösung als in Wasser kann sowohl die deutlich erhöhte initiale Freisetzung von Silberionen als auch das Einstellen eines Plateauwerts infolge der Erschöpfung der Komposite erklärt werden. Komposit *If* (23% / 13%) hingegen zeichnet sich durch ein bei der Auslagerung in Wasser für nicht vernetzte Komposite beobachtetes Verhalten aus. Es ist eine Zunahme der Silberfreisetzung über die gesamte Auslagerungsdauer als Funktion der Zeit auszumachen, wobei der Anstieg in der Silberionenkonzentration zwischen Tag 2 und 4 aber nur marginal ist. Auch dieses Verhalten kann durch ein verändertes Quellungsvermögen infolge der Verwendung einer TRIS-gepufferten Lösung und damit durch die in Kapitel 7.2.3. ausgeführte Theorie nach KUMAR et al.<sup>[126]</sup> erklärt werden. Keine Begründung hingegen kann für das Verhalten von Komposit *If* (12% / 29%) gegeben werden, das nach initialem Anstieg in der Silberionenkonzentration für die folgenden Tage nicht das Einstellen eines Plateauwerts, sondern eine Abnahme in der Silberkonzentration zeigt. Eine identische Freisetzungsscharakteristik wird ebenfalls für alle nicht vernetzten Komposite beobachtet. Nach einer im Vergleich zur Auslagerung in Wasser deutlich erhöhten Silberfreisetzung an Tag 1 ist im weiteren Verlauf weder das bei Auslagerung in Wasser beobachtete Verhalten noch das Einstellen eines Plateauwerts infolge der Erschöpfung der Komposite zu verzeichnen. Stattdessen erfolgt für alle Komposite eine kontinuierliche Abnahme der Silberkonzentration im umgebenden Medium. Dieser Befund spricht neben einem veränderten Quellungsverhalten der Polymermatrices für eine weitere Ursache des beobachteten Verlaufs der Silberkonzentrationen im umgebenden Medium.



**Abbildung 8-6:** Freisetzung von Silberionen aus Kompositbeschichtungen mit unterschiedlichen Silberbromid-Gehalten als Funktion der Auslagerungsdauer. (Oben) nicht vernetzte Composite; (unten) vernetzte Composite. Die gestrichelte Linie entspricht der antimikrobiell wirksamen Silberionenkonzentration.

Da eine Abnahme der Silberkonzentration zu verzeichnen ist, muss an dieser Stelle eine Ausfällung von Silber durch in der Pufferlösung vorliegende Komponenten in Betracht gezogen werden. Neben im Komposit eingelagertem Silberbromid kann als weiteres schwerlösliches Salz Silberchlorid ausgefällt werden sowie ein von BATES et al.<sup>[138]</sup> beschriebener TRIS(diamin)-Komplex. Ein Vergleich der Löslichkeitsprodukte<sup>[138, 139]</sup> lässt auf eine Abnahme der Löslichkeit in folgender Reihe schließen:  $K_L(\text{AgTRIS}_2^+) > K_L(\text{AgCl}) > K_L(\text{AgBr})$ . Das Löslichkeitsprodukt der Freisetzung von Silber aus den in die Composite eingelagerten Silberbromid-Nanopartikeln sollte folglich die Silberkonzentration in



Lösung bestimmende Faktor sein. Aufgrund der im TRIS-Puffer enthaltenen Chloridionen ist allerdings die Verschiebung des Löslichkeitsgleichgewichts von Silberchlorid durch gleich-ionige Zusätze zu beachten. Daher ist für das vorliegende System oberhalb einer Silberionen-konzentration von  $0,122 \mu\text{g} / \text{l}$  eine Ausfällung von Silberchlorid zu erwarten. Dieser Wert liegt deutlich unterhalb der aus Silberbromid löslichen Konzentration von  $\sim 79 \mu\text{g} / \text{l}$  und nur knapp oberhalb der therapeutisch wirksamen Konzentration von  $0,1 \mu\text{g} / \text{l}$ . Diese Überlegungen zeigen, dass die in einem TRIS-gepufferten Medium zu erwartenden Silberionenkonzentrationen nicht durch das Komposit, sondern vielmehr durch die Verschiebung des Löslichkeitsgleichgewichts von Silberchlorid bestimmt werden. Dass die mittels AAS tatsächlich bestimmten Werte für die meisten Proben oberhalb von  $0,122 \mu\text{g} / \text{l}$  liegen, kann auf eine kolloidale Verteilung und damit auf die Bestimmung von Silber nicht nur aus Lösung, sondern auch aus Silberchlorid zurückgeführt werden. Insgesamt erklärt die Ausfällung von Silber in Form von Silberchlorid aber gut den mangelnden Effekt des durch die Komposite freigesetzten Silbers innerhalb des Screenings silberhaltiger Kompositbeschichtungen auf antimikrobielle Wirksamkeit.

Dass die Ausfällung von Silberionen in Form von Silberchlorid auch unter in-vivo-Bedingungen zu erwarten ist, zeigt der Artikel von TREGAR.<sup>[140]</sup> Dieser beschäftigt sich mit den in Hautzellen nachweisbaren Silberkonzentrationen, die durch silberhaltige Wundauflagen freigesetzt wurden. Der Nachweis biologisch aktiver Silberionen erfolgte durch Anfärbereaktionen der Haut. Dabei wurden für Wundauflagen mit unterschiedlichen Silberfreisetzungsraten vergleichbare Mengen aktiven Silbers nachgewiesen. Diesen Befund führt TREGAR auf eine Reduzierung der Verfügbarkeit aktiven Silbers unter physiologischen Bedingungen durch Ausfällung von Silberchlorid zurück. Als weiteres Beispiel zur Bekräftigung seiner These führt TREGAR die bei der Zugabe von Silbernitrat-Lösung zu Speichel zu beobachtende milchige Trübung an. Diese sei ebenfalls auf die Bildung biologisch inaktiven Silbers durch Ausfällung von Silberionen oberhalb des Löslichkeitsprodukts von Silberchlorid zurückzuführen. Die Frage, warum Silberionen im menschlichen Körper antimikrobielle Aktivität zeigen, aber nicht unter dem im Rahmen der in-vitro-Untersuchungen gegebenen Chloridgehalt, der physiologischen Werten entspricht, kann an dieser Stelle allerdings nicht beantwortet werden.

### **8.3. Biokompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten**

Basierend auf den Ergebnissen des Screenings auf antimikrobielle Wirksamkeit wurden ausgewählte Polymerbeschichtungen auf Biokompatibilität gegenüber humanen Gingiva-

fibroblasten untersucht.<sup>[103]</sup> Zu diesen Polymerbeschichtungen zählten alle Copolymere von hexyl-VP mit DMMEP sowie die Copolymere von hexyl-VP mit VBP bis zu einem VBP-Gehalt von 50 mol-% (Polymere 2c bis 2f). Grund für die Auswahl dieser Polymerbeschichtungen war der beim Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit für diese Copolymere beobachtete, eindeutige Zusammenhang zwischen Polymerzusammensetzung und antimikrobieller Aktivität. Um einen vergleichbaren Zusammenhang zwischen Polymerzusammensetzung und Biokompatibilität umfassend zu untersuchen, wurden ebenfalls die Homopolymere von hexyl-VP und von DMMEP in die Untersuchungen eingeschlossen. Da im Rahmen des Screenings auf antimikrobielle Wirksamkeit unter den gegebenen Bedingungen kein direkter Effekt des durch die untersuchten Komposite freigesetzten Silbers auszumachen war, wurden die silberhaltigen Komposite sowie die entsprechenden Polymermatrices zunächst nicht in die Biokompatibilitätsuntersuchungen aufgenommen.

### 8.3.1. Ergebnisse der Biokompatibilitätsuntersuchungen

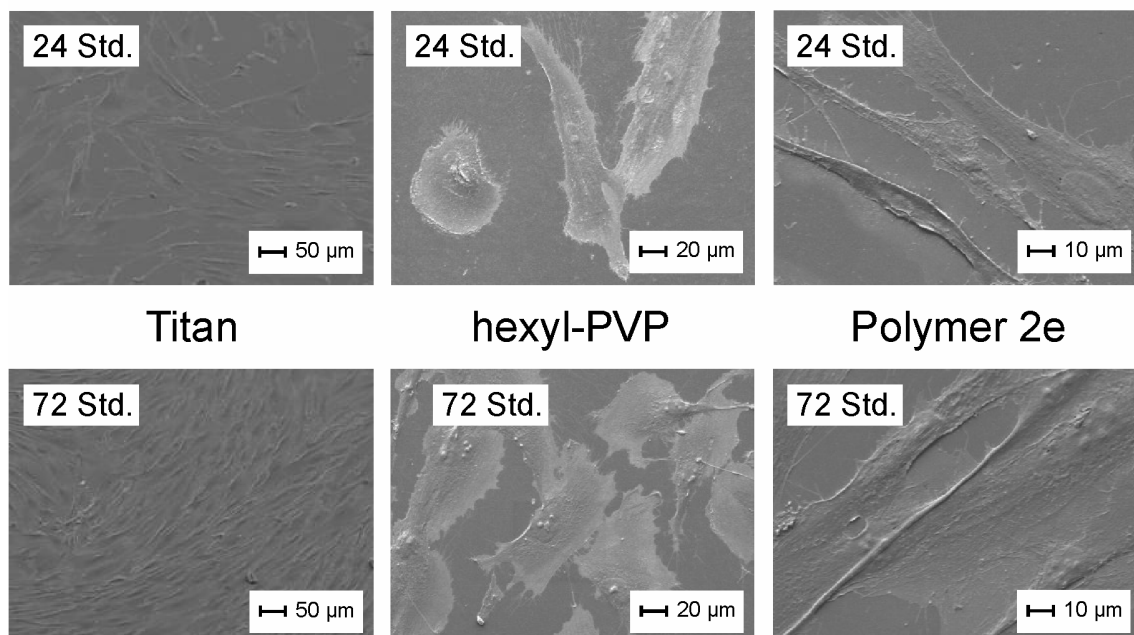
Die Ergebnisse der Zelladhäsionsuntersuchungen zeigen sowohl nach 24stündiger als auch nach 72stündiger Inkubation für hexyl-PVP erkennbare, aber nicht statistisch signifikante Unterschiede in der Zellzahl verglichen mit Titan. Bereits nach 24 Stunden weisen die mit hexyl-PVP beschichteten Oberflächen eine leichte Abnahme adhärenter Fibroblasten auf, die nach 72 Stunden noch deutlicher ausgeprägt ist (Abbildung 8-7). Durch den Vergleich der Zelladhäsion nach 72stündiger mit der nach 24stündiger Inkubation kann angenommen werden, dass die Zellproliferation auf Titan effizienter ist als auf hexyl-PVP beschichteten Oberflächen. Der beobachtete Unterschied ist aber ebenfalls nicht statistisch signifikant.

Die Ergebnisse der LDH-Untersuchungen werden durch die mikroskopische Beurteilung mittels SEM ergänzt. Auf Titan als positive Referenzkontrolle ausgesäte Fibroblasten zeigen eine Mischung aus spindelförmigen, gestreckten oder mehrpolig ausgebreiteten Zellen. Sie weisen speziell nach 24stündiger Inkubation eine hohe Anzahl an Filopodien auf. Nach 72stündiger Inkubationsdauer verändert sich die Morphologie hin zu spindelförmigen, gestreckten Zellen (Abbildung 8-6 links). Auf mit hexyl-PVP beschichteten Substraten finden sich im Vergleich zu Titan zu beiden Zeitpunkten vermehrt rund bzw. polygonal ausgebildete Zellen. Zudem weisen die Zellen eine geringere Zahl an Zellkontakten auf (Abbildung 8-6 mitte).

Das im Rahmen der Zelladhäsionsuntersuchungen gezeigte Verhalten der Copolymere von hexyl-VP mit VBP weist gewisse Unterschiede innerhalb der Polymerbeschichtungen auf, es wird aber keine statistische Signifikanz erreicht. Dennoch kann eine gewisse Tendenz

beobachtet werden. Insgesamt betrachtet zeigen die mit den Copolymeren beschichteten Substrate nach 24stündiger Inkubation eine mit Titan vergleichbare bzw. leicht erhöhte Anzahl adhärenter Fibroblasten. Nach 72stündiger Inkubation hingegen verschiebt sich die Anzahl adhärenter Fibroblasten zu mit Titan vergleichbaren bzw. etwas geringeren Werten für die polymerbeschichteten Oberflächen. Eine differenzierte Betrachtung identifiziert nach 24stündiger Inkubation Polymerbeschichtung *2e* als mit Titan identisch, wohingegen alle anderen Beschichtungen eine leicht verbesserte Adhäsion aufweisen. Nach 72 stündiger Inkubationsdauer ist die Tendenz einer zunehmenden Anzahl adhärenter Zellen mit steigendem VBP-Gehalt zu beobachten. Zeigen Beschichtungen *2c* und *2d* mit VBP-Gehalten von 50 mol-% bzw. 40 mol-% eine mit Titan vergleichbare Zelladhäsion, so ist die für Beschichtung *2f* mit einem VBP-Gehalt von 20 mol-% beobachtete Adhäsion mit hexyl-PVP vergleichbar (Abbildung 8-7).

SEM Untersuchungen zeigen auf allen untersuchten Polymerbeschichtungen sowohl nach 24stündiger als auch nach 72stündiger Inkubation gut adhärierende Fibroblasten. Im Vergleich zu Titan wird für die Copolymere ein geringer Anstieg des Anteils an abgerundeten Zellen und an Zellen mit einer geringeren Anzahl an Filopodien beobachtet (Abbildung 8-6 rechts). Das Ausmaß dieser Unterschiede ist aber nicht als signifikant einzustufen.



**Abbildung 8-6:** SEM-Darstellung der Morphologie von humanen Gingivafibroblasten nach 24stündiger und 72stündiger Inkubation auf (links) Titan, (mitte) hexyl-PVP, (rechts) Polymer *2e*<sup>10</sup>

<sup>10</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

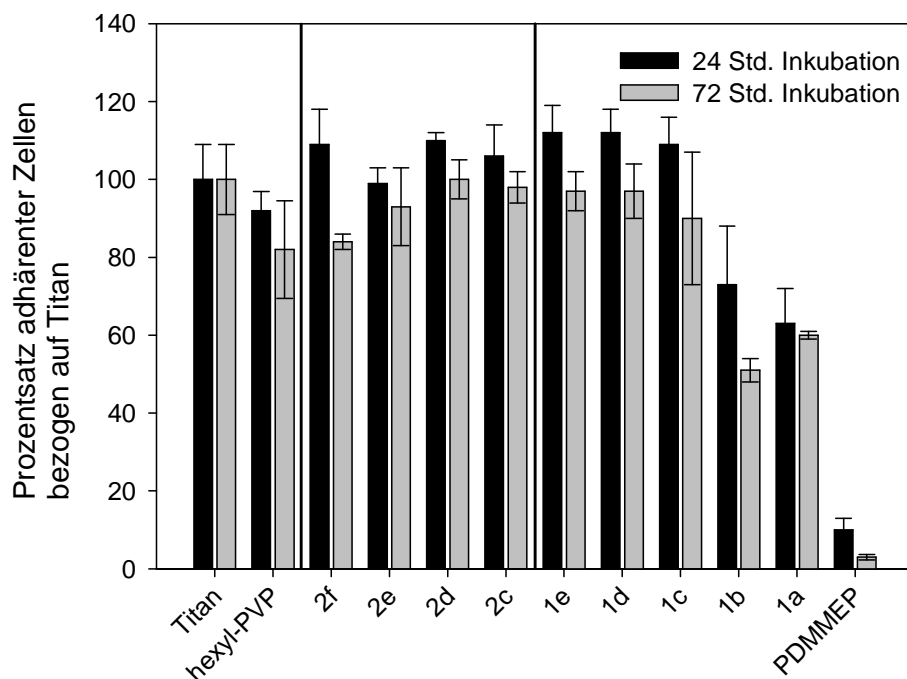
Zusammenfassend deuten Zelladhäsion, Proliferation und Morphologie auf eine gute Biokompatibilität der Polymerbeschichtungen von hexyl-VP mit VBP hin und schließen zytotoxische Effekte aus. Trotz mangelnder statistischer Signifikanz kann aufgrund der Unterschiede in der Zelladhäsion angenommen werden, dass die Polymerzusammensetzung die Adhäsion humaner Gingivafibroblasten auf beschichteten Oberflächen beeinflusst und die Zellakzeptanz von hexyl-VP durch Copolymerisation mit VBP verbessert werden kann.

Anhand des während Zelladhäsionsuntersuchungen beobachteten Verhaltens der Copolymere von hexyl-VP mit DMMEP sowie des Homopolymers von DMMEP lassen sich die Beschichtungen in zwei Gruppen einordnen. Mit den Polymeren *1c* bis *1e* beschichtete Substrate zeigen nach 24ständiger Inkubation im Vergleich zu Titan eine leichte Erhöhung der Anzahl adhärenter Fibroblasten. Dabei sind keine Unterschiede innerhalb der Polymerbeschichtungen auszumachen. Nach 72ständiger Inkubation verändert sich die Anzahl adhärenter Fibroblasten zu etwas geringeren Werten für die polymerbeschichteten Oberflächen im Vergleich zu Titan. Daher kann angenommen werden, dass die Zellproliferation auf den polymerbeschichteten Substraten weniger effizient ist als auf Titan. Die beobachteten Unterschiede sind aber nicht statistisch signifikant, so dass Zelladhäsion und Proliferation insgesamt auf eine gute Biokompatibilität der Polymerbeschichtungen *1c* bis *1e* hindeuten und zytotoxische Effekte ausschließen. Ein deutlich anderes Verhalten hingegen zeigen die Polymerbeschichtungen *1b* und *1a* sowie das Homopolymer von DMMEP. Mit Polymer *1b* beschichtete Substrate weisen im Vergleich zu Titan eine signifikante Reduktion adhärenter Zellen auf. Ist die Anzahl adhärenter Zellen bereits nach 24ständiger Inkubation um etwa 30% geringer, so weisen die Oberflächen nach 72ständiger Inkubation sogar eine Reduktion um 50% auf. Diese Beobachtung lässt nicht nur auf eine verschlechterte Zelladhäsion, sondern auch auf eine verminderte Zellproliferation schließen. Im Vergleich hierzu ist die Anzahl adhärenter Zellen für Polymer *1a* sowohl nach 24ständiger als auch nach 72ständiger Inkubation um etwa 40% geringer als auf Titan. Eine identische Reduktion adhärenter Zellen zu beiden Zeitpunkten steht für eine mit Titan vergleichbare Proliferationsrate, auch wenn die absolute Zellzahl herabgesetzt ist. Aus diesem Grund ist der durch Beschichtung *1a* negativ beeinflusste Parameter in der initialen Zellanlagerung zu sehen. Zelltoxizität in Form einer Herabsetzung der Proliferationsrate wird aber nicht festgestellt.

Im Vergleich zu den untersuchten Copolymeren und zu Titan ist auf mit PolyDMMEP beschichteten Substraten kaum eine Zelladhäsion zu beobachten (Abbildung 8-7). Dieses Ergebnis ist laut Kapitel 4 erwartet worden und unterstützt die von ADDEN et al. erhaltenen Ergebnisse<sup>[17]</sup> bezüglich der Fähigkeiten diverser Polymerbeschichtungen, eine Adhäsion von

Osteoblasten zu fördern. PolyDMMEP zeichnete sich auch in dieser Studie durch sehr schlechtes Zellwachstum aus. Insgesamt haben die durchgeführten Zelladhäsionsuntersuchungen für die Copolymere von hexyl-VP mit DMMEP sowie für das Homopolymer von DMMEP gezeigt, dass die Variation des DMMEP-Gehalts in einem Bereich von 20 mol-% bis 40 mol-% die Fibroblastenadhäsion und –proliferation nicht signifikant beeinflusst und somit zu mit Titan vergleichbaren Oberflächen führt. Ein DMMEP-Gehalt > 40 mol-% aber führt zu einer deutlichen Abnahme adhärenter Zellen, wobei die Proliferationsrate in Abhängigkeit der konkreten Polymerbeschichtung mehr oder weniger stark bzw. gar nicht beeinflusst wird.

Im Rahmen der SEM-Untersuchungen zeigen Polymerbeschichtungen *1c* bis *1e* verglichen mit Titan keinen sichtbaren Effekt auf Anzahl und Morphologie der angelagerten Gingivafibroblasten. Auch Polymer *1b* bedingt nur als nicht signifikant einzustufende Änderungen in der Morphologie, obwohl durch LDH-Untersuchungen eine Reduktion der Anzahl adhärenter Zellen festgestellt wurde (Abbildung 8-8 links).

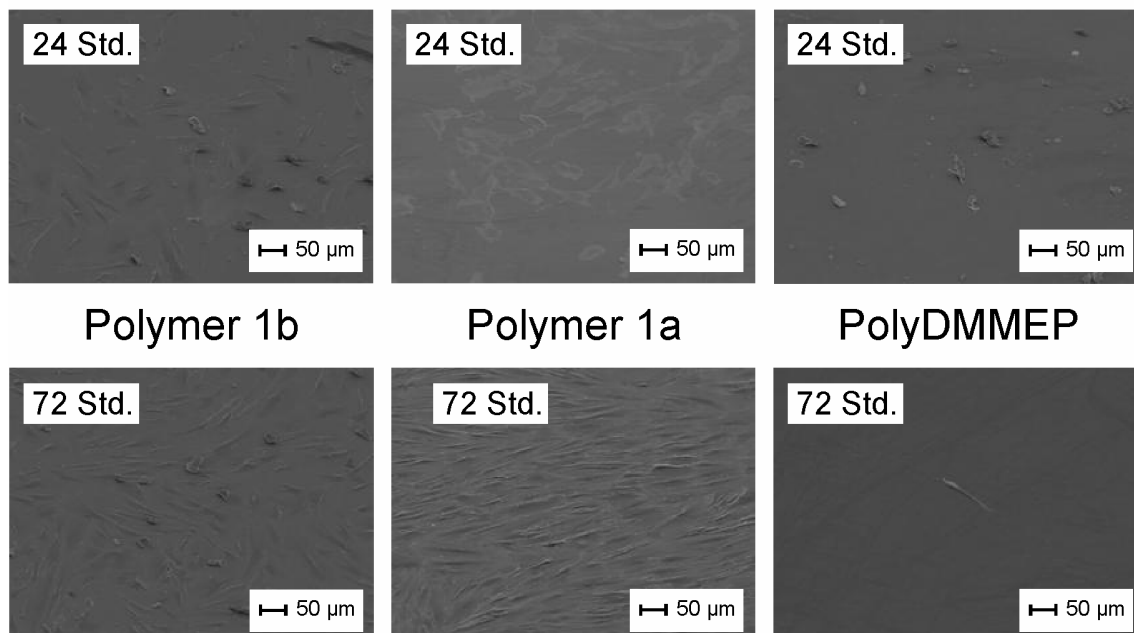


**Abbildung 8-7:** Anzahl adhärenter Gingivafibroblasten auf polymerbeschichteten Oberflächen nach 24stündiger und 72stündiger Inkubation im Vergleich zu Titan als Referenzmaterial; Copolymerreihen sind nach steigendem Phosphonatgehalt geordnet

Durchgängige morphologische Änderungen können für Polymerbeschichtung *1a* nach 24stündiger Inkubationsdauer beobachtet werden. Die Zellen sind abgerundet und zeigen ein weniger langgestrecktes, fibroplastoides Erscheinungsbild. In einigen Fällen erscheint trotz

nur moderat ausgeprägter Zellreduktion der Eindruck geringerer Oberflächenbedeckung. Diese Effekte nehmen bei 72stündiger Inkubation ab und adhärente Fibroblasten weisen wieder eine spindelförmige Erscheinung auf (Abbildung 8-8 mitte). In Einklang mit der LDH-Untersuchung zeigen die SEM-Aufnahmen von PolyDMMEP bereits nach 24stündiger Inkubation eine ausgeprägte Reduktion angelagerter Zellen begleitet von erheblichen morphologischen Veränderungen. Nach 72stündiger Inkubation ist die negative Beeinflussung durch die Polymerbeschichtung so stark ausgeprägt, dass nur noch einzeln Fibroblasten detektiert werden können (Abbildung 8-8 rechts).

Ein Vergleich der Resultate aus dem Screening auf antimikrobielle Wirksamkeit und den Adhäsionsuntersuchungen humaner Gingivafibroblasten lässt für Copolymere von hexyl-VP mit DMMEP für die klinische Anwendung zwei gegenläufige Trends im Hinblick auf die Polymerzusammensetzung erkennen. Die antimikrobielle Aktivität beschichteter Oberflächen wird durch eine Zunahme des DMMEP-Gehalts in dem Polymer erhöht, wohingegen die Kompatibilität gegenüber humanen Gingivafibroblasten mit abnehmendem DMMEP-Gehalt verbessert wird. Eine Polymerbeschichtung mit einer Zusammensetzung von  $(\text{hexyl-VP})_{0.24}(\text{DMMEP})_{0.76}$  zeigt einen erheblichen antimikrobiellen Effekt bei gleichzeitig akzeptabler Biokompatibilität und macht die Nutzung dieses therapeutischen Fensters in der klinischen Praxis denkbar.



**Abbildung 8-8:** SEM-Darstellung der Morphologie von humanen Gingivafibroblasten nach 24stündiger und 72stündiger Inkubation auf (links) Polymer 1b, (mitte) Polymer 1a, (rechts) PolyDMMEP; geordnet nach steigendem DMMEP-Gehalt<sup>11</sup>

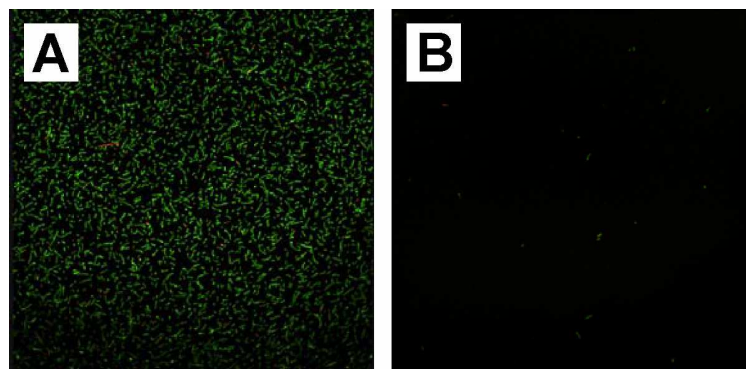
<sup>11</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

#### 8.4. weiterführende antimikrobielle Untersuchungen von (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub>

Innerhalb der untersuchten Polymerbeschichtungen hat sich (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub> als vielversprechender Kandidat für eine klinische Anwendung erwiesen. Aus diesem Grund wurden speziell für diese Beschichtung weiterführende Untersuchungen hinsichtlich der antimikrobiellen Wirksamkeit durchgeführt. Diese beinhalteten eine statistische Absicherung der antimikrobiellen Wirksamkeit gegen *Streptococcus mutans* unter Verwendung entsprechender Probenanzahl sowie eine Ausweitung der eingesetzten repräsentativen oralen Keime auf *Streptococcus sanguinis*. Zudem wurden teilbeschichtete Substratoberflächen hergestellt und in Untersuchungen auf antimikrobielle Wirksamkeit eingesetzt, um den Einfluss von beschichteten und unbeschichteten Bereichen innerhalb einer Probe auf die Bakterienverteilung zu dokumentierten.

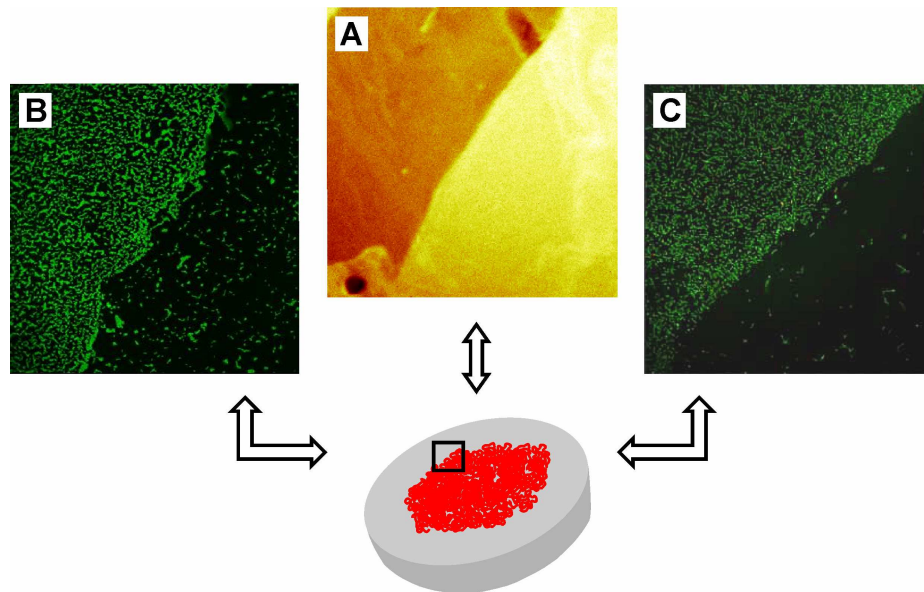
##### 8.4.1. Ergebnisse weiterführender antimikrobieller Untersuchungen

Neben einer erfolgreichen statistischen Absicherung der antimikrobiellen Wirksamkeit von (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub> gegen *Streptococcus mutans* zeigen die Ergebnisse der quantitativen Analysen zudem eine statistisch signifikante Reduktion der bakteriellen Besiedlung durch Monokulturen von *Streptococcus sanguinis*. Abbildung 8-9 zeigt im Vergleich zu Titan eine nahezu vollständige Unterdrückung der Anlagerung von *Streptococcus sanguinis* auf mit (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub> beschichteten Oberflächen.



**Abbildung 8-9:** initiale Anlagerung von *S. sanguinis* auf (A) Titan (Referenz), (B) (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub>

Die Verwendung von teilbeschichteten Substraten (Abbildung 8-10) verdeutlicht im Bereich der Grenzlinie zwischen beschichtetem und unbeschichtetem Areal sehr anschaulich die Auswirkung der Polymerbeschichtung auf das Erscheinungsbild der bakteriellen Adhäsion.



**Abbildung 8-10:** Untersuchung des Grenzflächenbereichs teilbeschichteter Titansubstrate: (A) ToF-SIMS Bild der Gesamtionenverteilung,<sup>12</sup> (B) initiale Anlagerung von *S. mutans*, (C) initiale Anlagerung von *S. sanguinis*.<sup>13</sup> Die dargestellten Bildausschnitte geben einen Bereich von 500 µm x 500 µm wieder.<sup>14</sup>

Die Substrate weisen scharf voneinander abgegrenzte Bereiche eines unbeschichteten Randes mit für Titan charakteristischer Adhäsion und einer beschichteten Mitte mit einer statistisch signifikanten Reduktion der bakteriellen Besiedlung auf. Dieses Erscheinungsbild wird sowohl für die Anlagerung von *Streptococcus mutans* als auch von *Streptococcus sanguinis* beobachtet. Die bereits im Rahmen eines Screenings unter Verwendung von *Streptococcus mutans* beobachtete antimikrobielle Aktivität von (hexyl-VP)<sub>0.24</sub>(DMMEP)<sub>0.76</sub> konnte somit durch weiterführende Untersuchungen bestätigt und auf weitere Spezies übertragen werden.

### 8.5. Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften

Für eine Untersuchung der simultanen Bildung von Biofilmen unter Verwendung eines Inokulums von Zahnabstrichen wurden neben Titan als Referenzmaterial alle Copolymerbeschichtungen von hexyl-VP-co-VBP und hexyl-VP-co-DMMEP sowie das Homopolymer hexyl-PVP eingesetzt. Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Komposite wurden aufgrund des Freisetzens biozider Silberionen in das gemeinsame Medium und damit einer Verfälschung der individuellen Wirksamkeit nicht verwendet. Die Stärke der Biofilmbildung auf den unterschiedlichen Beschichtungsmaterialien wurde durch Quantifizierung der extrazellulären polymeren Substanz über Färbung mit Kristallviolett untersucht. Eine Identifizierung der angelagerten Keime erforderte mehrere Teilschritte. Zunächst erfolgte die

<sup>12</sup> Bildquelle: Dr. Wibke Dempwolf, TU Braunschweig

<sup>13</sup> Bildquelle: Dr. Andreas Winkel, Medizinische Hochschule Hannover

<sup>14</sup> Die teilbeschichteten Substrate wurden von Dipl.Chem. Magda Slusznia, TU Braunschweig bereitgestellt.



Extraktion bakterieller DNA aus den auf den Substratoberflächen angelagerten Biofilmen. Anschließend erfolgte mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eine exponentielle in-vitro-Vervielfältigung des Genabschnitts, der die ribosomale Ribonukleinsäure 16S rRNA codiert. Dabei wurde der für die Identifizierung genutzte, zu amplifizierende DNA-Abschnitt durch Oligonukleotide (sogenannte Primer) als Startpunkt für die DNA-replizierenden Enzyme festgelegt. Von dem aus der PCR erhaltenen Produkt wurde dann ein Strang der DNA enzymatisch abgebaut, um Einzelstrang-DNA zu erhalten. Diese zeichnet sich durch eine sequenzabhängige Ausbildung von Doppelhelices aus. Diese Eigenschaft wurde für eine sich anschließende elektrophoretische Auftrennung genutzt. Die auf dem Elektrophorese-Gel erhaltenen einzelnen Banden wurden in einem letzten Schritt durch Sequenzanalyse den entsprechenden Keimen zugeordnet.<sup>[141]</sup>

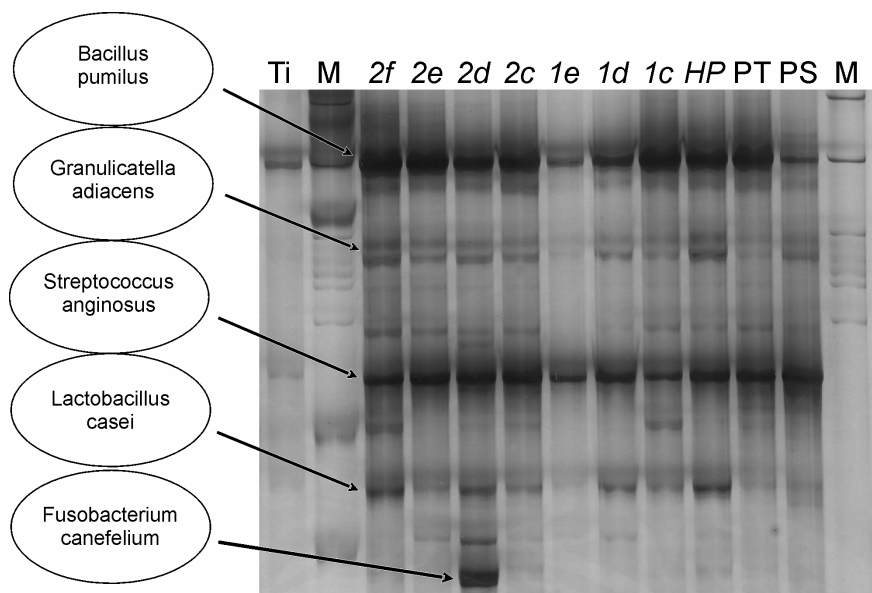
#### 8.5.1. Ergebnisse der Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften

Alle für die Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften eingesetzten Substrate weisen ein vergleichbares Ausmaß in der Biofilmbildung auf. Die Quantifizierung der bakteriellen Besiedlung zeigt keine Abhängigkeiten zwischen Art der Oberfläche und Stärke der Biofilmbildung. Es werden aber Unterschiede in der Zusammensetzung der Biofilmgemeinschaften auf den unterschiedlichen Substratoberflächen gefunden. Dabei führen einzelne Beschichtungen nicht nur zu einer Reduktion bis hin zur vollständigen Unterdrückung der Besiedlung durch spezifische Keime, sondern auch zu einer Bevorzugung anderer Keime. Offenbar wirken die unterschiedlichen Polymerbeschichtungen selektiv und fördern bzw. inhibieren einzelne Bakterienspezies.

Wichtige Informationen zur Einschätzung der bei der Analyse komplexer Biofilmgemeinschaften identifizierten Keime liefert die von AAS et al. beschriebene bakterielle Diversität in der gesunden menschlichen Mundhöhle.<sup>[142]</sup> Bei fünf klinisch gesunden Probanden wurde eine Mikroflora von insgesamt 141 unterschiedlichen bakteriellen Arten gefunden, die sechs unterschiedliche bakterielle Stämme repräsentierten. Diese waren **Firmicutes** (*Streptococcus*, *Gemella*, *Eubacterium*, *Selenomas*, *Veillonella* und verwandte), **Actinobacteria** (*Actinomyces*, *Atopobium*, *Rothia* und verwandte), **Proteobacteria** (*Neisseria*, *Eikenella*, *Campylobacter* und verwandte), **Bacteroidetes** (*Porphyromonas*, *Prevotella*, *Capnocytophaga* und verwandte), **Fusobacteria** (*Fusobacterium*, *Leptotrichia* und verwandte) sowie der **TM7 Stamm** ohne kultivierbare Repräsentative. Die Mikroflora in der gesunden menschlichen Mundhöhle zeichnete sich zudem durch Lokalisations- und

Subjektspezifität aus. An allen Lokalisationen gefundene Spezies stellten die Gattungen *Gemella*, *Granulicatella*, *Streptococcus* und *Veillonella* dar, andere Spezies zeichneten sich durch Ortsspezifität aus. Insgesamt zeichnete sich die gesunde Mundhöhle durch eine charakteristische bakterielle Flora aus, die sich von der durch KUMAR et al.<sup>[143]</sup> beschriebenen Flora bei oralen Erkrankungen unterschied. Das Vorliegen von Zahnfäule und tiefen Zahnlöchern beispielsweise drückte sich in der bakteriellen Besiedelung supra- und subgingivaler Plaque durch die Anwesenheit von *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. und *Atopobium* spp. aus.

Abbildung 8-11 zeigt ein Beispiel der im Rahmen der Untersuchung komplexer Biofilmgemeinschaften erhaltenen elektrophoretischen Auftrennung von Einzelstrang-DNA mit entsprechender Keimzuordnung der Banden. Auf den betrachteten Titan- und polymerbeschichteten Oberflächen werden die von AAS et al.<sup>[142]</sup> als Teil der natürlichen Mundflora beschriebenen Keime *Granulicatella adiacens*, *Streptococcus anginosus* sowie Fusobakterien gefunden. Ebenso sind von KUMAR et al.<sup>[144]</sup> bei Zahnerkrankungen beschriebene Laktobazillen anwesend. Über die von AAS et al. und KUMAR et al. berichteten Keime hinaus wurde zudem *Bacillus pumilus* identifiziert.



**Abbildung 8-11:** elektrophoretische Auftrennung von Einzelstrang-DNA und Zuordnung der Banden nach Sequenzanalyse für die Polymerbeschichtungen 1c bis 1e und 2c bis 2f sowie (Ti) Titan, (M) Marker, (HP) hexyl-PVP, (PT) Petrischale<sup>15</sup>

*Granulicatella adiacens* wird auf allen untersuchten Oberflächen gefunden, wobei das Ausmaß der Anlagerung aber durch die Polymerbeschichtungen beeinflusst wird. Die

<sup>15</sup> Bildquelle: Dr. Wolf-Rainer Abraham, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung Braunschweig

deutlichste Unterdrückung der Anlagerung ist durch Polymerbeschichtung *1e* zu beobachten. In den Untersuchungen von AAS et al.<sup>[142]</sup> wurde *G. adiacens* an allen Lokalisationen in der Mundhöhle gefunden. Als einer der vorherrschenden Keime zeichnete er sich dabei auf dem Zungenrücken, der lateralen Zungenoberfläche sowie dem harten und weichen Gaumen aus. Aber auch auf der Zahnoberfläche wurde *G. adiacens* nachgewiesen. *G. adiacens* wird häufig als opportunistischer Keim beschrieben<sup>[142]</sup>, d. h. als ein Keim, der nur bei Patienten mit eingeschränkter Immunabwehr zu Erkrankungen führt. In diesem Fall zählt er zu spezifischen oralen bakteriellen Spezies, die an unterschiedlichen systemischen Erkrankungen beteiligt sind wie Bronchopneumonie, Knochenmarkentzündung bei Kindern und kardiovaskulären Erkrankungen.<sup>[142]</sup> *Granulicatella* bedingt insbesondere Sepsis und Bakteriämie (Einschwemmung von Bakterien in den Blutkreislauf) und ist Ursache von 5-6% der Fälle infektiöser Endokarditis mit schwerem klinischem Verlauf.<sup>[144]</sup>

Im Vergleich zu *G. adiacens* wird die Anlagerung von *Streptococcus anginosus* durch keine der untersuchten Oberflächen beeinflusst. *S. anginosus* zählt nach WHILEY et al. zu einer der drei phenotypisch voneinander abgrenzbaren Arten der *Streptococcus milleri* Gruppe.<sup>[145]</sup> Allgemein sind Keime der *S. milleri* Gruppe Bestandteil der Flora der menschlichen Mundhöhle, der oberen Atemwege sowie des Urogenital- und Gastrointestinaltrakts.<sup>[146-152]</sup> Es werden aber auch Keime dieser Gruppe bei Infektionen im Mundraum oder der inneren Organe isoliert. Diese Infektionen können Hirn, Leber, Lungen, Milz, Blinddarm, Bauchfell und Hirnhaut betreffen. Auch Entzündungen der Haut und des weichen Gewebes werden berichtet.<sup>[153-158]</sup> Anhand von 64 Isolaten aus dentalem Plaque gesunder Probanden und 91 Isolaten infektiöser Quellen untersuchten WHILEY et al.<sup>[145]</sup> in ihrer Studie insgesamt 157 Stämme der *S. milleri* Gruppe. Dabei konnten 10% der Isolate aus dentalem Plaque als *S. anginosus* identifiziert und somit die Anwesenheit in der gesunden Mundhöhle bestätigt werden. Sowohl orale als auch nicht-orale infektiöse Erkrankungen, aus denen die übrigen 93 Stämme isoliert wurden, zeigten ebenfalls die Anwesenheit von *S. anginosus*. Insbesondere bei Erkrankungen im Urogenitaltrakt stellt *S. anginosus* die Mehrheit der Stämme aus der *S. milleri* Gruppe dar.

Ein Keim, der eine deutliche Beeinflussung durch die untersuchten Polymerbeschichtungen zeigt, ist *Fusobacterium canefelinum*. Eine Anlagerung ist lediglich auf Beschichtung *2d* zu beobachten, alle anderen Polymere unterdrücken die Adhäsion. Fusobakterien kommen natürlich bei Menschen und Warmblütlern vor. In ähnlicher Weise wie beim Menschen kommen Fusobakterien im Rachenraum und Gastrointestinaltrakt einer Vielzahl von Tierarten

vor und spielen dort eine vergleichbare Rolle als Bestandteil der Normalflora und als Erreger von Infektionen bei geschwächtem Immunsystem. Es wird ebenfalls eine Isolierung von Keimen der Gattung *Fusobacterium* aus dem Mund von gesunden und erkrankten Menschen sowie von verschiedenen Tierarten beschrieben. Derzeit zählen zu der Gattung der Fusobakterien 11 humanpathogene Arten, wobei das in der Analyse komplexer Biofilme gefundene *Fusobacterium canefelinum* allerdings dem Rachenraum von Hunden und Katzen zuzuordnen ist.<sup>[159]</sup> Trotz des unerwarteten Auftretens in einem Inokulum aus menschlichem Zahnabstrich ist die oberflächenabhängige Anlagerung bemerkenswert. Fusobakterien zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, über eine Reihe von Adhäsinen mit anderen Bakterienarten zu interagieren bzw. zu aggregieren. Die Adhäsine ermöglichen zudem eine Anlagerung an Schleimhautepithelzellen und künstliche Oberflächen wie Zahnersatzmaterialien. Wie in Kapitel 1 dargestellt, spielt die spezifische Koaggregation von oralen Bakterien eine wichtige Rolle bei der Adhäsion und Verteilung von Bakterien in Plaque. Dabei besitzen Fusobakterien die Fähigkeit, eine Koaggregation mit Pionierkeimen zu überbrücken. Sie stellen somit einen wichtigen Faktor bei der Ausbildung von Plaque dar und eine Beeinflussung ihrer Anlagerung an Substratoberflächen stellt einen bisher nicht beschriebenen, viel versprechenden Aspekt dar.

Die Anlagerung des von AAS et al.<sup>[142]</sup> mit Zahnerkrankungen in Verbindung gebrachten Keims *Lactobacillus casei* ist auf allen Oberflächen zu beobachten. Lactobazillen sind stark säurebildende Organismen und machen weniger als 1% der gesamten kultivierbaren Mikroflora der menschlichen Mundhöhle aus. Dabei zählt *L. casei* zu einer der am häufigsten isolierten Arten. Bei dem Vorliegen von fortgeschrittenen kariösen Schädigungen ist eine Zunahme des Anteils an Lactobazillen sowohl im Schmelz als auch auf Wurzeloberflächen zu beobachten. Laktobazillen sind allgemein mit kariösem Dentin und dem Fortschreiten kariöser Schädigungen in Verbindung zu bringen und nicht als Ursache dieser Erkrankungen anzusehen.<sup>[160]</sup>

Neben den von AAS et al. und KUMAR et al. beschriebenen Keimen wird zudem eine oberflächenunabhängige Anlagerung von *Bacillus pumilus* beobachtet. Aus der menschlichen Mundflora isolierte *Bacillus* Spezies wurden lange Zeit als während der Präparation eingetragene Verunreinigungen angesehen.<sup>[161]</sup> Erst MOLANDER et al.<sup>[162]</sup> und HELGASON et al.<sup>[163]</sup> betrachteten im Rahmen der Erfassung von Bakterien, die mit Wurzelspitzenentzündung und marginaler Parodontitis (eine durch Infektion verursachte

Zahnfleischerkrankung mit einem progressiven Verlust von Knochensubstanz) in Verbindung stehen und über kollagenabbauende Fähigkeiten verfügen, *Bacillus* Spezies als mögliche Pathogene in Plaque oder im Wundmilieu der Mundhöhle. JOHNSON et al. postulierten eine ursächliche Rolle in der Anwesenheit dieser Organismen bei oralen Infektionen.<sup>[164]</sup> Dabei zogen sie aufgrund der Arbeiten von DROBNIWSK et al.<sup>[165]</sup> nicht *Bacillus* Spezies als solche als Virulenzfaktoren in Betracht, sondern durch sie gebildete bakterielle Proteasen, Lipasen und Hämolysine. Durch TRAVIS et al. war bekannt, dass Proteasen sowohl bei Parodontitis als auch bei systemischen Erkrankungen eine Rolle spielen.<sup>[166]</sup> Ursache sind diverse Angriffspunkte von Proteasen im Wirtsorganismus. Diese beinhalten Wachstum und Differenzierung von Zellen regulierende Glykoproteine (Zytokine), Kollagen, Gerinnungsfaktoren, Zellrezeptoren und die Unterbrechung von Signalwegen. Ausgehend von diesen Erkenntnissen untersuchten JOHNSON et al.<sup>[164]</sup> Isolate aus Wurzelkanälen von Zähnen, die eine Wurzelbehandlung erforderten, und aus Zahnfleischtaschen bei marginaler Parodontitis. In diesen Isolaten identifizierten JOHNSON et al. 12 unterschiedliche *Bacillus* Stämme, wobei alle Isolate *B. pumilus* beinhalten und extrazelluläre proteolytische Aktivität zeigten. Die extrazelluläre Aktivität äußerte sich in der Degradation des Protease-Substrats Hide powder azure (HPA) und wird als Virulenzfaktor in der Entstehung und dem Fortschreiten von Wurzelerkrankungen und parodontischen Wunden betrachtet. Zudem zeigten die isolierten Stämme von *B. pumilus* extrazelluläre Aktivitäten in Form eines Abbaus von Elastin und Kollagen, zwei wesentlichen Bestandteilen des Bindegewebes des Zahnhalteapparats (Periodontium). Da eine Zerstörung des periodontalen Gewebes eines der auffälligsten Symptome der Parodontitis ist, kann der Abbau von Elastin und Kollagen als unterstützender Faktor in der Gewebeschädigung bei apikaler (von der Wurzelspitze ausgehende) und marginaler (vom Zahnfleischsaum ausgehender) Parodontitis angesehen werden.

Zusammenfassend wurde im Rahmen der Untersuchung komplexer Biofilmgemeinschaften eine selektive Förderung bzw. Inhibierung einzelner Bakterienspezies durch unterschiedliche Polymerbeschichtungen gefunden. Das ermöglicht die eingangs dieser Arbeit vorgestellte (Kapitel 1) und völlig neue Perspektive, nicht mehr den Biofilm als ganzes unterdrücken zu müssen, sondern gezielt die Ansiedlung pathogener Keime zu verhindern und dabei komensale oder avirulente Bakterien zu ignorieren. Um ein solches Ziel verfolgen zu können, müssen die Zusammenhänge zwischen den Eigenschaften der Polymerbeschichtungen und den Reaktionen der einzelnen oralen Bakterienspezies aber noch deutlich besser verstanden werden. Es müssen daher in künftigen Arbeiten systematisch

Struktur-Wirkungsbeziehungen zwischen Polymerzusammensetzung und Wirkung auf native orale Biofilmgemeinschaften untersucht werden.

## 9. Zusammenfassung und Ausblick

Bekannte Konzepte zur antimikrobiellen Modifizierung von Oberflächen nutzen die Fähigkeit von amphiphilen Polymeren zur Schädigung bakterieller Zellmembran sowie die antiseptische Wirksamkeit von Silberionen bei gleichzeitig geringer Toxizität. Auf diese Weise wurden kontaktbakterizide Oberflächen und Kompositmaterialien mit dualen Wirkungsmechanismus entwickelt. Eine Übertragbarkeit der Systeme auf Titan(oxid) als Substratmaterial und eine für die klinische Anwendung zufrieden stellende Biokompatibilität stehen bisher noch aus. Daher wurden in dieser Arbeit polymere Beschichtungsmaterialien und silberhaltige Kompositsysteme basierend auf (Co)Polymeren einer antimikrobiell wirksamen, quartären Ammoniumverbindung und phosphonathaltigen Monomeren hergestellt. Die Auswahl von phosphonathaltigen Comonomeren ermöglichte aufgrund ihrer Oberflächenaktivität eine kovalente Anbindung an Titan(oxid) und konnte weiterhin als Parameter zur Modifizierung des antimikrobiellen Potentials und der Biokompatibilität der Beschichtungen genutzt werden. Welche Rolle die quartäre Ammoniumkomponente und die ausgewählten Phosphonate in Bezug auf Biokompatibilität und antimikrobielle Aktivität spielen, wurde durch die Untersuchung der Homopolymere geklärt.

Der konkrete Lösungsansatz beinhaltete die Verwendung von 4-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid (hexyl-VP) als antimikrobiell aktive und die Phosphonate 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester (VBP) bzw. Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP) als oberflächenaktive Komponente. Für die Einführung quartärer Ammoniumgruppen wurde ein Präpolymeransatz gewählt, da die Umsetzung von Vinylpyridin zu den entsprechenden monomeren Vinylpyridiniumsalzen in der Ausbildung hochmolekularer quartärer Polymere resultiert. Durch freie radikalische (Co)Polymerisation gelang die Synthese von Präpolymeren mit definierten Abstufungen in der Zusammensetzung. Dabei stellten beide Copolymerisationen Systeme dar, bei denen beliebige Polymerzusammensetzungen gezielt über die eingesetzte Monomerenmischung eingestellt werden konnten. In einem zweiten Schritt erfolgte durch polymeranaloge Umsetzung im Rahmen einer N-Alkylierungsreaktion von Vinylpyridin die Einführung antimikrobiell aktiver quartärer Ammoniumgruppen. In Abhängigkeit des Beschichtungsmaterials wurden Ausmaß der N-Alkylierung und eingesetztes N-Alkylierungsreagenz variiert. Für potentiell kontaktbakterizide Polymere wurde zur Einführung hydrophober Alkylketten in direkter Nachbarschaft zu kationischen Pyridiniumgruppen eine vollständige Umsetzung mit Bromhexan angestrebt. Da die freien

Elektronenpaare in Vinylpyridin für die Stabilisierung von Silberbromid-Nanopartikeln bei der Synthese von Kompositmaterialien notwendig sind, wurden die entsprechenden Polymermatrices unter Verwendung von Bromhexan nur partiell N-alkyliert. Eine weitere Gruppe innerhalb der silberhaltigen Kompositmaterialien stellten thermisch vernetzbare Systeme dar. Diese wurden ebenfalls partiell N-alkyliert, wobei neben Bromhexan auch Bromhexen zur Einführung einer ungesättigten und damit vernetzbaren Doppelbindung verwendet wurde. Im Rahmen der Synthese von Kompositmaterialien konnte in einem letzten Schritt durch in-situ Fällungsreaktion die Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in die kationischen, partiell N-alkylierten Polymermatrices erreicht werden. Qualitative und quantitative Untersuchungen zeigten dabei deutliche Unterschiede zwischen den beiden Kompositsystemen. Von besonderem Interesse war der Effekt ungesättigter Doppelbindungen in der Polymermatrix. Erfolgte die Einlagerung von Silberbromid in thermisch vernetzbare Polymermatrices quantitativ, so konnte dies unter ausschließlicher Verwendung von Bromhexan bei partiell N-alkylierten Matrices nicht beobachtet werden.

Die Anbindung der Polymere und Komposite an Titan(oxid) erfolgte in Abhängigkeit ihrer Zusammensetzung auf zwei Wegen. Die Immobilisierung von hexyl-PVP erfolgte über die Methode des photochemischen „Grafting onto“ unter Vermittlung eines photochemisch- und oberflächenaktiven Benzophenonderivats. Die Anwendung dieser Methode muss aufgrund der geringen Fähigkeit von Benzophenon zur Abstraktion von Wasserstoffatomen von aromatischen Ringen als kritisch angesehen werden. Zudem erschwerten Veränderungen in der nativen Oxidschicht von Titan während des Anbindungsprozesses eine Charakterisierung der Monoschicht des Benzophenonderivats und des Polymerfilms. Modifizierungen im präparativen Vorgehen und den in der Analytik eingesetzten Modellen sowie der Weg der Anbindung von hexyl-PVP über die Anbindung von Polyvinylpyridin (PVP) mit anschließender N-Alkylierung an der Substratoberfläche führten zu einer deutlich verbesserten Anwendbarkeit des photochemischen „Grafting onto“.

Die Anbindung phosphonathaltiger Polymere an Titan(oxid) in Form von ultradünnen Filmen konnte aufgrund ihrer Oberflächenaktivität in einem einfachen Spin Coating-Prozess mit anschließendem Tempern erzielt werden. Neben der chemischen Identität der angebundenen Makromoleküle konnte für die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten potentiell kontaktbakteriziden Polymerbeschichtungen ein definierter Zusammenhang zwischen Copolymerzusammensetzung und Oberflächenbenetzbarkeit bzw. Schichtdicke nachgewiesen werden. Neben chemischer Identität der Polymermatrices konnte im Rahmen der



Immobilisierung von Kompositmaterialien auch nach dem Anbindungsprozess das Vorliegen von Silber an der Substratoberfläche bestätigt werden. Der Einsatz thermisch vernetzbarer Polymermatrices resultierte im Vergleich zu dem nicht vernetzbaren System in signifikant erhöhten Schichtdicken und damit in der Fähigkeit zur Einlagerung und Freisetzung größerer Mengen Silberbromid. Zudem wurde ein deutlicher Zusammenhang zwischen resultierender Schichtdicke und dem Anteil vernetzbarer Gruppen in der Polymermatrix sowie der Temperzeit beobachtet, so dass eine gezielte Oberflächenmodifizierung über diese beiden Parameter denkbar ist.

Die Evaluierung der antimikrobiellen Wirksamkeit der modifizierten Oberflächen an dem oralpathogenen Einzelkeim *S. mutans* zeigte für die Gruppe der nicht vernetzbaren Kompositmaterialien weder kontaktbakterizide noch durch Silberfreisetzung bedingte antimikrobielle Eigenschaften. Thermisch vernetzbare Systeme hingegen zeichneten sich durch antimikrobielle Effekte aus, wobei diese mit dem Anteil vernetzbarer Gruppen und dem Ausmaß der Vernetzungsreaktion zunahmen. Es ist aber anzumerken, dass die antimikrobielle Aktivität im Wesentlichen auf den Eigenschaften der eingesetzten Polymermatrices beruhte und ein Effekt der freigesetzten Silberionen nicht zu beobachten war. An dieser Stelle kann nicht beantwortet werden, ob die Unzulänglichkeiten in den Kompositen selbst oder vielmehr in der eingesetzten Testmethode begründet liegen. Für die kontaktbakteriziden Systeme zeigte die Evaluierung von antimikrobieller Wirksamkeit und Biokompatibilität eine deutliche Abhängigkeit von dem eingesetzten Phosphonat und der Polymerzusammensetzung. Copolymere von hexyl-VP und VBP sowie PolyVBP zeichneten sich durch gute Biokompatibilität aus, allerdings konnte die beobachtete antimikrobielle Aktivität insgesamt nicht als klinisch relevant eingestuft werden. Copolymere von hexyl-VP und DMMEP sowie PolyDMMEP hingegen zeichneten sich mit steigendem DMMEP-Gehalt durch eine deutliche Erhöhung der antimikrobiellen Aktivität bis hin zur vollständigen Unterdrückung der Bakterienadhäsion aus. Zugleich wurde mit steigendem DMMEP-Gehalt aber auch eine ausgeprägte Verschlechterung der Biokompatibilität beobachtet. Diese beiden gegenläufigen Trends konnten in einer Polymerbeschichtung mit einer Zusammensetzung von  $(\text{hexyl-VP})_{0,24}\text{-co-(DMMEP)}_{0,76}$  so vereint werden, dass ein signifikant antimikrobieller Effekt bei gleichzeitig akzeptabler Biokompatibilität erzielt wurde.

Parallel zur Evaluierung der antimikrobiellen Aktivität an Einzelkeimen wurde der Einfluss der kontaktbakterizid modifizierten Oberflächen auf die simultane Bildung von Biofilm-

gemeinschaften untersucht. Für alle Beschichtungen wurde zwar ein vergleichbares Maß an Biofilmbildung gefunden, sie waren aber selektiv wirksam und förderten bzw. inhibierten die Anlagerung einzelner bakterieller Spezies. Insbesondere die Beeinflussung der Anlagerung von Fusobakterien als eine Koaggregation mit Pionierkeimen überbrückende Spezies stellt einen vielversprechenden Ansatz zur gezielten Verhinderung der Ansiedlung pathogener Keime dar.

Auch in Zukunft wird die Entwicklung antimikrobieller Oberflächen mit gleichzeitig guter Biokompatibilität Gegenstand der medizinischen Forschung sein. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit vorgestellte Synthese bifunktioneller Polymere mit der Fähigkeit, selbsttätig an Titan(oxid) zu binden und die Eigenschaften der Oberfläche entsprechend der medizinischen Anforderung zu beeinflussen, stellt einen vielversprechenden Ansatz für zukünftige Entwicklungen dar. Dabei ist neben den für eine Anbindung an Titan(oxid) und eine Verbesserung der Biokompatibilität eingesetzten phosphonathaltigen Monomeren die Untersuchung weiterer Monomere möglich, die über andere oberflächenaktive Gruppen wie beispielsweise 3,4-Dihydroxyphenylalanin verfügen. Auch bieten sich als antimikrobiell aktive Monomere neben 4-Vinyl-N-hexylpyridiniumbromid weitere quartäre Ammoniumgruppen tragende Monomere wie N-alkylierte Aminomethacrylate an. Zudem geben die im Rahmen der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse einen Eindruck für die Komplexität der Faktoren, welche die Kombination von antimikrobieller Aktivität und Biokompatibilität in Polymeren bereits unter in-vitro Bedingungen beeinflussen. Aus diesem Grund ist für zukünftige Forschungen neben der Entwicklung weiterer Polymerbeschichtungen auch die Untersuchung des Verhaltens vielversprechender Beschichtungen unter in-vivo Bedingungen von entscheidender Bedeutung. Dazu zählen für das konkrete Anwendungsbeispiel von Zahnimplantaten neben der Evaluierung des antimikrobiellen Potentials bei Einsatz in der Mundhöhle auch Faktoren wie Proteinablagerung und eine damit verbundene Maskierung der Oberfläche oder die Stabilität der Beschichtung bei medizinischem Einsatz.

## 10. Experimenteller Teil

### 10.1. Materialien

#### 10.1.1. verwendete Lösungsmittel

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Reinheitsgrad</i>
Aceton	technisch
Aceton, HPLC-Qualität	99,98 % (GC)
Dichlormethan	technisch
Dichlormethan, HPLC-Qualität	99,99 % (GC)
Diethylether	technisch
Dimethylsulfoxid (DMSO)	99,7 %
Ethylacetat	technisch
Hexan	technisch
Methanol	technisch
Methanol, HPLC-Qualität	99,8 %
Nitromethan	technisch
Tetrahydrofuran (THF)	technisch
Wasser (Millipore)	

Alle technischen Lösungsmittel wurden vor der Verwendung oder weiteren Reinigung bzw. Trocknung destilliert. Tetrahydrofuran wurde über Natrium und Benzophenon getrocknet und vor Verwendung frisch abdestilliert. Nitromethan wurde mit  $\text{CaH}_2$  versetzt, über Nacht gerührt und anschließend destilliert.

**10.1.2. verwendete Chemikalien**

<i>Reagenz</i>	<i>Hersteller</i>	<i>Reinheitsgrad</i>
2,2'-Azo-bis-(isobuttersäureamidin) dihydrochlorid (V-50)	Aldrich	97 %
Azoisobutyronitril (AIBN)	Acros	98 %
1-Bromhexan	Aldrich	98 %
6-Brom-1-hexen	Acros	97 %
Calciumhydrid	Aldrich	90-95 %
1,3-Dibrompropan	Fluka	99 %
Diethylphosphit	Fluka	technisch
Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat	Acros	95 %
2,6-Di-tert-butylparacresol	Aldrich	99 %
4-Hydroxybenzophenon	Acros	99 %
Kaliumcarbonat	Aldrich	p. a.
Kieselgel	M&N	technisch
Methacrylsäurechlorid	Alfa Aesar	97 %
4-Methoxyphenol	Acros	99 %
Natriumhydrid	Acros	80 %
Natriumhydroxid	Roth	> 99 %
Natriumiodid	Fluka	> 99 %
Natriumsulfat	Roth	99 %
Silber-p-toluolsulfonat	Aldrich	99 %
Triethylamin	Acros	p. a.
Triethylphosphit	Fluka	> 99 %
Trimethylsilylbromid	Aldrich	97 %
4-Vinylbenzylchlorid	Fluka	90 %
4-Vinylpyridin	Acros	95 %

Triethylamin wurde vor Gebrauch einen Tag über  $\text{CaH}_2$  unter Rückfluss getrocknet und abdestilliert. Triethylphosphit wurde 24 Stunden unter Stickstoffatmosphäre über Natrium gerührt, anschließend bei 25 mbar destilliert (Siedepunkt  $43^\circ\text{C}$ ) und unter einer Stickstoffatmosphäre bei  $-30^\circ\text{C}$  gelagert. 4-Vinylbenzylchlorid und 4-Vinylpyridin wurden 12 Stunden über  $\text{CaH}_2$  gerührt, bei 10 mbar (Siedepunkt  $90^\circ\text{C}$ ) bzw. 38 mbar (Siedepunkt  $80^\circ\text{C}$ ) destilliert und unter einer Stickstoffatmosphäre bei  $-30^\circ\text{C}$  gelagert.

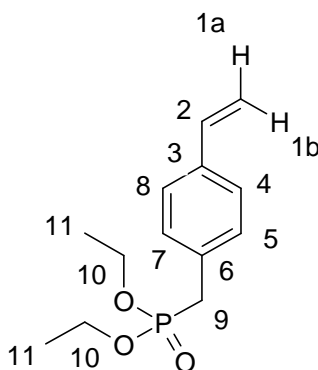
### 10.1.3. Substrate

Als Substrate für die Aufbringung sämtlicher untersuchter Monoschichten und Polymerschichten wurde eine Titan/Aluminium/Vanadium (Ti90/Al6/V4) der Firma Goodfellow verwendet. Eine 30 x 30 cm große Folie geglühten Härtegrads und der Dicke von 1 mm wurde mittels einem gepulsten Nd:YAG-Lasersystem unter Argon-Hochdruckstrom in Scheiben mit einem Durchmesser von 13 mm geschnitten. Die Titanfolien wurden anschließend mit einem Poliergerät des Typs Phoenix 4000 der Firma Buehler unter Verwendung von Siliziumcarbit-Nassschleifpapier des Typs P 800, P 1200 und P 2500 geschmirgelt. Danach erfolgte ein Polieren der Substrate mit kolloidaler Siliziumdioxid-Feinstpoliersuspension des Typs MasterMet und MasterMet 2 der Firma Buehler und einem ChemoMet Poliertuch. Die Substrate wurden nacheinander unter Verwendung von Ultraschall je zweimal für 10 Minuten in Dichlormethan, Aceton, Methanol und Millipore-Wasser gewaschen. Nach Trocknen unter einem Stickstoffstrom wurden die Substrate bis zur Verwendung unter Vakuum bei 120°C gelagert. Unmittelbar vor Verwendung wurden die Substrate nacheinander unter Verwendung von Ultraschall je zweimal für 10 Minuten in Dichlormethan, Aceton, Methanol von HPLC-Qualität sowie in Millipore-Wasser gewaschen und unter Stickstoffstrom getrocknet.

## 10.2. Monomersynthese

### 10.2.1. 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester (VBP)

In einem ausgeheizten und unter Stickstoffstrom stehenden 250 ml Zweihalskolben versehen mit Rührer und Tropftrichter mit Druckausgleich werden 140 ml getrocknetes THF auf 0°C heruntergekühlt. In diesem werden anschließend 3,33 g (111 mmol) Natriumhydrid (80%ig) suspendiert und 19,0 ml (133 mmol) Diethylphosphit langsam zugetropft. Die Lösung wird auf Raumtemperatur erwärmt und dann einem auf 0°C herabgekühltem Ansatz von 15,67 ml (111 mmol) Vinylbenzylchlorid und 1,65 g (111 mmol) Natriumiodid in 100 ml getrocknetem THF zugeführt. Die Reaktionslösung wird über Nacht gerührt. Durch Zugabe von Ethylacetat werden die während der Reaktion gebildeten Salze ausgefällt und die überstehende Lösung filtriert. Noch in der Lösung verbliebene Salze werden durch Zentrifugieren entfernt. Flüchtige Bestandteile werden am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand mittels Säulenchromatographie gereinigt. Dabei dient Kieselgel als stationäre und Ethylacetat als mobile Phase.



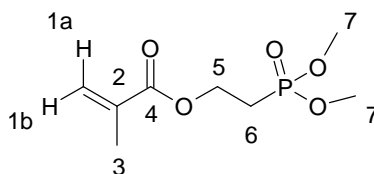
**Abbildung 10-1:** 4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester **8**

Ausbeute:	46,8 wt.-% (51,90 mmol; 13,23g)
$^1\text{H-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) [ppm]:	1,23 (t, 6H, $^3J=7$ Hz, H-11); 3,12 (d, 2H, $J_{\text{PH}}=10$ Hz, H-9); 3,99 (m, 4H, H-10); 5,2 (d, 1H, $^3J=6$ Hz, H-1a); 5,71 (d, 1H, $^3J=9$ Hz, H-1b); 6,67 (m, 1H, H-2); 7,29 (m, 4H, H-4/5, H-7/8)
$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) [ppm]:	16 (C-11); 33 (d, C-9); 62 (C-10); 113 (C-1); 126 (C-4/8); 129 (C-5/7); 131 (C-6); 136 (C-2/3)
$^{31}\text{P-NMR}$ ( $\text{CDCl}_3$ ) [ppm]:	24
IR (NaCl) [ $\text{cm}^{-1}$ ]:	2983 (s, C-H-Valenz, aliphatisch); 2900 (m, C-H-Valenz, aromatisch); 1630, 1523 (s, C=C-Valenz aromatisch); 1392 (w, $\text{CH}_2/\text{CH}_3$ -Deformation); 1251 (s, P=O-Streck); 1164 (s, P-O-Alkyl-Valenz antisymmetr.); 1028 (s, P-O-Alkyl- Valenz symmetr.); 858 (s, C-H-Valenz aromatisch)

### 10.2.2. Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat (DMMEP)

In einem ausgeheizten und unter Stickstoff stehenden 250 ml Zweihalskolben mit Tropftrichter mit Druckausgleich werden 15 ml (101 mmol) Dimethyl-2-hydroxyethylphosphonat, 14,1 ml (101 mmol) Triethylamin und 2 Spatel 2,6-Di-tert-butylparacresol in 120 ml Dichlormethan vorgelegt. Die Reaktionsmischung wird auf 0°C gekühlt. 12 ml (130 mmol) Methacrylsäurechlorid in 25 ml Dichlormethan werden langsam zugetropft, wobei ein weißer Niederschlag entsteht. Die Mischung wird über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird der Suspension Diethylether zugegeben, um während der Reaktion gebildetes und teilweise noch in Lösung vorliegendes  $\text{NEt}_3\text{HCl}$  zu fällen. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit Diethylether gewaschen. Die flüssige Phase wird am Rotationsverdampfer eingengt. Sich dabei wiederum abscheidendes  $\text{NEt}_3\text{HCl}$  wird erneut abfiltriert und der Niederschlag mit Diethylether gewaschen. Dieses Vorgehen wird

wiederholt, bis keine Auskristallisation mehr beobachtet werden kann. Dann wird der Rückstand bei  $1,8 \times 10^{-2}$  mbar und  $155^\circ\text{C}$  Ölbadtemperatur destilliert.



**Abbildung 10-2:** Dimethyl-(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat **14**

Ausbeute: 44,3 wt.-% (44,78 mmol; 9,95 g)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) [ppm]: 1,94 (dd, 3H, H-3); 2,19 und 2,26 (dt, 2H,  $J_{\text{PH}}=19$  Hz,  $^3J=15$  Hz, H-6); 3,77 (d, 6H,  $J_{\text{PH}}=11$  Hz, H-7); 4,37 und 4,41 (dt, 2H,  $J_{\text{PH}}=14$  Hz,  $^3J=14$  Hz, H-5); 5,6 (m, 1H, H-1b); 6,12 (m, 1H, H-1a)

$^{31}\text{P-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) [ppm]: 32

### 10.3. Darstellung der (Prä)polymere

#### 10.3.1. Poly(4-Vinylpyridin)

In einem dickwandigen Schraubreagenzglas werden insgesamt 4 ml einer 2 molaren Lösung von 4-Vinylpyridin in 3,5 ml getrocknetem THF und 0,5 ml Methanol vorgelegt. Parallel wird eine Stammlösung des Initiators hergestellt, die sich aus 130 mg (0,8 mmol) AIBN und 5 ml getrocknetem THF zusammensetzt. Von dieser wird dem Reaktionsansatz 0,5 ml zugesetzt, so dass eine Initiatorkonzentration von 1 mol.-% vorliegt. Nach Spülung mit Stickstoff wird das Reagenzglas verschlossen und die Reaktionslösung im Ölbad auf  $60^\circ\text{C}$  erhitzt. Nach 16 Stunden Reaktionszeit wird die Polymerisation durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis abgebrochen. Das Polymer wird in Diethylether ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird erneut in THF gelöst, aus Diethylether ausgefällt und das Polymer im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet (Ausbeute: 50 wt.-% (418,1 mg)).

#### 10.3.2. Poly(4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester)

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkrohr werden unter Stickstoff-Atmosphäre 1,246 g (0,005 mol) VBP in 2 ml Methanol und 3 ml Wasser gelöst. Parallel wird eine Stammlösung

des Initiators hergestellt, die sich aus 135,5 mg (0,5 mmol) V50 und 5 ml Wasser zusammensetzt. Von dieser wird dem Reaktionsansatz 0,5 ml zugesetzt, so dass eine Initiatorkonzentration von 1 mol-% vorliegt. Die Reaktionslösung wird im Ölbad auf 55°C erhitzt. Nach 18 Stunden Reaktionszeit wird die Polymerisation durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis abgebrochen. Die Polymerlösung wird für 4 Tage gegen Wasser dialysiert und anschließend gefriergetrocknet (Ausbeute: 54,6 wt.-% (680 mg)).

### 10.3.3. Poly(Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat)

In einem ausgeheizten 50 ml Schlenkrohr werden unter Stickstoff-Atmosphäre 2,2218 g (0,01 mol) DMMEP in 6 ml Methanol und 4 ml Wasser gelöst. Parallel wird eine Stammlösung des Initiators hergestellt, die sich aus 271 mg (1,0 mmol) V50 und 5 ml Wasser zusammensetzt. Von dieser wird dem Reaktionsansatz 0,5 ml zugesetzt, so dass eine Initiatorkonzentration von 1 mol-% vorliegt. Die Reaktionslösung wird im Ölbad auf 55°C erhitzt. Nach 18 Stunden Reaktionszeit wird die Polymerisation durch Eintauchen des Reaktionsgefäßes in Eis abgebrochen. Die Polymerlösung wird für 4 Tage gegen Wasser dialysiert und anschließend gefriergetrocknet.

Ausbeute:	48 wt.-% (1,07 g)
GPC (Wasser):	$M_n = 7,5 \times 10^5$ g / mol
	$M_w = 2,2 \times 10^6$ g / mol
	PD = 2,95

### 10.3.4. Poly(4-Vinylpyridin-co-Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat)

Im Rahmen der Präpolymersynthese für kontaktbakterizide Polymere (*1a-1e*) werden in fünf dickwandige Schraubreagenzgläser insgesamt je 4 ml 2 molarer Stammlösungen der Monomere in getrocknetem THF in unterschiedlichen Volumenverhältnissen gegeben (Tabelle 10-1). Parallel wird eine Stammlösung des Initiators hergestellt, die sich aus 260 mg (1,6 mmol) AIBN und 5 ml getrocknetem THF zusammensetzt. Von dieser wird dem Reaktionsansatz 0,5 ml zugesetzt, so dass eine Initiatorkonzentration von 2 mol-% vorliegt. Nach Spülung der Ansätze mit Stickstoff werden die Reagenzgläser verschlossen und die Reaktionslösungen im Ölbad auf 60°C erhitzt. Nach 16,5 Stunden Reaktionszeit werden die Polymerisationen durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis abgebrochen. Während der Reaktion ausgefallenes Polymer wird durch Zugabe von Methanol gelöst. Die Polymere werden in Diethylether ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird in



Methanol gelöst, aus Diethylether ausgefällt und die Polymere im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

Im Rahmen der Präpolymersynthese für silberhaltige Komposite (*1f*) werden 2,9 ml einer 2 molaren 4-VP Lösung und 4,3 ml einer 2 molaren DMMEP Lösung eingesetzt und die Reaktionszeit beträgt 18,5 Stunden.

**Tabelle 10-1:** Daten zur Copolymerisation von Vinylpyridin mit Dimethyl(2-methacryloyloxyethyl)phosphonat

Nr.	Volumen 2 molarer Lsg in ml		4-VP Gehalt im Polymer in mol-%	$M_n$ in g / mol	$M_w$ in g / mol	PD	Umsatz in wt.-% (mg)
	4-VP	DMMEP					
1a	1	3	24	39 700	52 820	1,33	52 (865)
1b	1,5	2,5	40	42 500	48 010	1,13	57 (814)
1c	2	2	60	32 000	44 370	1,39	75 (987)
1d	2,5	1,5	69	41 400	46 620	1,13	77 (912)
1e	3	1	79	-----	-----	-----	78 (176)
1f	2,9	4,3	48	-----	-----	-----	71 (1792)

### 10.3.5. Poly(4-Vinylpyridin-co-4-Vinylbenzylphosphonsäurediethylester)

Im Rahmen der Präpolymersynthese für kontaktbakterizide Polymere (*2c-2f*) werden in vier dickwandige Schraubreagenzgläser insgesamt je 4 ml 2 molarer Stammlösungen der Monomere in getrocknetem THF in unterschiedlichen Volumenverhältnissen gegeben (Tabelle 10-2). Parallel wird eine Stammlösung des Initiators hergestellt, die sich aus 130 mg (0,8 mmol) AIBN und 5 ml getrocknetem THF zusammensetzt. Von dieser wird dem Reaktionsansatz 0,5 ml zugesetzt, so dass eine Initiatorkonzentration von 1 mol-% vorliegt. Nach Spülung der Ansätze mit Stickstoff werden die Reagenzgläser verschlossen und die Reaktionslösungen im Ölbad auf 60°C erhitzt. Nach 16 Stunden Reaktionszeit werden die Polymerisationen durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis abgebrochen. Die Polymere werden in Hexan ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird in Methanol gelöst, aus Hexan ausgefällt und die Polymere im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet. Die Synthese der Präpolymere *2a* und *2b* für kontaktbakterizide Polymere erfolgt unter der Verwendung einer 1,6 molaren Stammlösung von VBP und Gesamtvolumina von ~ 5 ml. Damit ergibt sich eine Initiatorkonzentration von 1,1 mol-%. Zudem beträgt die Reaktionszeit 18 Stunden und das Ausfällen der Polymere erfolgt in Diethylether. Dabei fallen die Polymere als hochviskose Flüssigkeiten aus.

Die Präpolymersynthese für silberhaltige Komposite (*2g-2i*) erfolgt analog der Synthese der Präpolymere *2c-2f* unter Verwendung entsprechender Volumenverhältnisse. Die Reaktionszeit beträgt aber 18 Stunden und das Ausfällen der Polymere erfolgt aus Diethylether.

**Tabelle 10-2:** Daten zur Copolymerisation von Vinylpyridin mit Vinylbenzylphosphonat

Nr.	Volumen 2 molarer Lsg in ml		4-VP Gehalt im Polymer in mol-%	Umsatz in wt.-% (mg)
	4-VP	VBP		
2a	0,4	4,6 <sup>a)</sup>	10	17 (319)
2b	0,8	4,1 <sup>a)</sup>	20	35 (631)
2c	1,5	2,5	49	28 (447)
2d	2	2	60	27 (388)
2e	2,5	1,5	69	36 (463)
2f	3	1	78	45 (518)
2g	1,4	2,6	65	49 (614)
2h	3,1	0,9	76	69 (773)
2i	3,5	0,5	82	77 (763)

<sup>a)</sup>Verwendung einer 1,6 molaren Stammlösung

## 10.4. Polymeranaloge Umsetzung der Präpolymere

### 10.4.1. vollständige N-Alkylierung mit Bromhexan

Für die Umsetzung der Copolymere von 4-VP mit DMMEP (*1a-1e*) werden jeweils 200 mg des zu quartärnisierenden Polymers in einem Schraubreagenzglas in 3,5 ml getrocknetem Nitromethan gelöst. Anschließend werden ~ 1,5 Äquivalent 1-Bromhexan bezogen auf die Menge an Pyridineinheiten (Tabelle 10-3) zugegeben. Nach Spülung der Ansätze mit Stickstoff werden die Reaktionslösungen im Ölbad auf 72°C erhitzt und über 72 Stunden gerührt. Durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis wird die Reaktion beendet. Während der Reaktion eventuell ausgefallenes Polymer wird durch tropfenweise Zugabe von Methanol gelöst. Die Polymere werden dann in Diethylether ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird in Methanol gelöst, aus Diethylether ausgefällt und die Polymere im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

Für die Umsetzung der Copolymere von 4-VP mit VBP (*2a-2f*) und des Homopolymers von 4-VP werden die in vorangegangener Reaktion (10.3.5. und 10.3.1.) erhaltenen Ausbeuten vollständig eingesetzt. Die Polymere werden jeweils in 4,8 ml getrocknetem Nitromethan gelöst und mit 1,2 ml Bromhexan versetzt.

**Tabelle 10-3:** Daten zur vollständigen N-Alkylierung mit Bromhexan

Nr.	Einwaage Polymer in mg	Pyridineinheiten in mmol	Bromhexan in $\mu\text{l}$ (eq.)	Ausbeute in wt.-% (mg)	N-Alkylierungs- grad in %
1a	200	0,247	68 (1,9)	82 (197)	~ 100
1b	200	0,456	126 (1,9)	50 (139)	~ 100
1c	200	0,790	162 (1,4)	66 (219)	~ 100
1d	200	0,976	201 (1,4)	85 (306)	~ 100
1e	200	1,218	256 (1,5)	80 (319)	~ 100
2a	319	0,133	1200 (64,3)	30 (102)	~ 100
2b	631	0,561	1200 (15,2)	57 (413)	~ 100
2c	447	1,207	1200 (7,1)	---	81
2d	388	1,410	1200 (6,1)	---	93
2e	463	2,108	1200 (4,1)	---	~ 100
2f	518	2,926	1200 (2,9)	---	83
P(4-VP)	418	3,976	1200 (2,2)	---	81

#### 10.4.2. partielle N-Alkylierung mit Bromhexan

Für die partielle Umsetzung der Copolymere von 4-VP mit VBP (2g-2i) werden jeweils 200 mg des zu quartärnisierenden Polymers in einem Schraubreagenzglas in 3,5 ml getrocknetem Nitromethan gelöst. Anschließend werden ~ 0,2 Äquivalent 1-Bromhexan für einen Alkylierungsgrad von 20 mol-% und ~ 0,5 Äquivalent 1-Bromhexan für einen Alkylierungsgrad von 50 mol-% bezogen auf die Menge an Pyridineinheiten (Tabelle 10-4) zugegeben. Nach Spülung der Ansätze mit Stickstoff werden die Reaktionslösungen im Ölbad auf 72°C erhitzt und über 72 Stunden gerührt. Durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis wird die Reaktion beendet. Die Polymere werden dann in Diethylether ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird in Methanol gelöst, aus Diethylether ausgefällt und die Polymere im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

**Tabelle 10-4:** Daten zur partiellen N-Alkylierung mit Bromhexan

Nr.	Pyridineinheiten in mmol	Bromhexan in $\mu\text{l}$ (eq.)	Ausbeute in wt.-% (mg)	N-Alkylierungs- grad in %
2g	0,825	26 (0,22)	41 (95)	23
	0,825	65 (0,56)	59 (164)	51
2h	1,077	33 (0,22)	88 (210)	26
	1,077	83 (0,55)	78 (233)	58
2i	1,241	40 (0,23)	55 (135)	24
	1,241	100 (0,61)	64 (209)	61

#### 10.4.3. partielle N-Alkylierung mit Bromhexan und Bromhexen

Für die partielle Umsetzung der Copolymere von 4-VP mit DMMEP (1f) mit 1-Bromhexan und Bromhexen werden jeweils 200 mg des zu quartärnisierenden Polymers in einem Schraubreagenzglas in 2 ml getrocknetem Nitromethan gelöst. Anschließend wird etwas 4-Methoxyphenol als Inhibitor zugesetzt. Danach werden zwischen 0,125 und 0,5 Äquivalent

Bromhexen bezogen auf die Menge an Pyridineinheiten (Tabelle 10-5) zugegeben. Nach Spülung der Ansätze mit Stickstoff werden die Reaktionslösungen im Ölbad auf 72°C erhitzt und über 72 Stunden gerührt. Nach 72 Stunden wird den Reaktionsansätzen zwischen 0,125 und 0,375 Äquivalent Bromhexan bezogen auf die Menge an Pyridineinheiten zugegeben und für weitere 72 Stunden bei 72°C gerührt. Durch Eintauchen der Reaktionsgefäße in Eis wird die Reaktion beendet. Die Polymere werden dann in Diethylether ausgefällt, isoliert und getrocknet. Zur weiteren Aufreinigung wird in Methanol gelöst, aus Diethylether ausgefällt und die Polymere im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

**Tabelle 10-5:** Daten zur partiellen N-Alkylierung mit Bromhexan und Bromhexen

Nr.	Pyridineinheiten in mmol	Bromhexan in $\mu$ l (eq.)	Ausbeute in wt.-% (mg)	N-Alkylierungs- grad in %
2g	0,825	26 (0,22)	41 (95)	23
	0,825	65 (0,56)	59 (164)	51
2h	1,077	33 (0,22)	88 (210)	26
	1,077	83 (0,55)	78 (233)	58
2i	1,241	40 (0,23)	55 (135)	24
	1,241	100 (0,61)	64 (209)	61

## 10.5. Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln

Die Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln in die in Tabelle 10-6 aufgeführten Polymere erfolgt in Form einer in-situ Fällungsreaktion. Dazu werden in einem Schraubreagenzglas jeweils 70 mg des Polymers in 1 ml getrocknetem Nitromethan gelöst. Bei nicht vollständiger Löslichkeit des Polymers wird tropfenweise Methanol zugesetzt, bis eine klare Lösung entsteht. Parallel dazu werden die in Tabelle 10-6 angeführten Mengen Silber para-Toluolsulfonat (AgPTS) in 1 ml eines Lösungsmittelgemisches von gleichen Volumenteilen DMSO und Nitromethan gelöst. Dabei betragen die eingesetzten AgPTS-Mengen ~ 1 Äquivalent bezogen auf die Menge an Bromidionen im Polymer. Sowohl die Polymer- als auch die AgPTS-Lösungen werden anschließend im Eisbad auf 0°C gekühlt. Die AgPTS-Lösungen werden dann tropfenweise und unter Rühren zu den Polymerlösungen gegeben. Es wird für weitere 15 Minuten bei 0°C gerührt und anschließend noch für 30 Minuten bei Raumtemperatur. Die Komposite werden in Diethylether ausgefällt, isoliert und im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

**Tabelle 10-6:** Daten zur Einlagerung von Silberbromid-Nanopartikeln

Polymer	Br <sup>-</sup> in mmol	AgPTS in mg (eq.)	Ausbeute in wt.-% (mg)	AgBr-Gehalt <sup>b)</sup> in wt.-%	Ø-Partikelgröße <sup>c)</sup> in nm
2g (51%) <sup>a)</sup>	0,078	17,23 (0,8)	80 (51,7)	11,7	17,2
2h (26%)	0,080	24,18 (1,1)	81 (76,6)	2,7	50,1
2h (58%)	0,144	42,69 (1,1)	81 (91,4)	9,7	11,6
2i (24%)	0,085	30,37 (1,3)	83 (82,9)	8,9	21,5
2i (61%)	0,163	49,76 (1,1)	80 (95,8)	19,2	15,5
2f (23% / 13%)	0,111	55,70 (1,8)	66 (82,6)	9,1	11,8
2f (16% / 24%)	0,119	55,70 (1,7)	71 (88,6)	16,6	9,4
2f (12% / 29%)	0,122	30,66 (0,9)	61 (76,9)	16,4	10,8
2f (--- / 43%) <sup>a)</sup>	0,091	21,90 (0,9)	91 (65,1)	10,2	15,5

<sup>a)</sup>die eingesetzte Menge Polymer beträgt 50 mg; <sup>b)</sup>mittels TGA bestimmter Wert; <sup>c)</sup>aus TEM-Aufnahmen ermittelter Wert

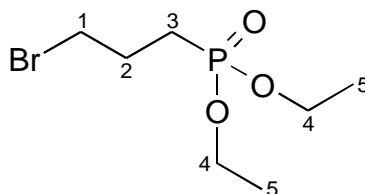
## 10.6. Modifizierung von Titan

### 10.6.1. Synthese von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

Die Synthese von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure erfolgt in einer dreistufigen Reaktion über die Darstellung von Diethyl-3-bromopropylphosphonat und Diethyl-3-(4-oxybenzophenon)propylphosphonat.

#### 10.6.1.1. Diethyl-3-bromopropylphosphonat

In einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler und Destillationsaufsatz werden 20,2 g (0,1 mol) 1,3-Dibrompropan und 4,15 g (0,025 mol) Triethylphosphit unter Rühren auf 130°C erhitzt. Der Ansatz wird für 120 Minuten bei 130°C gehalten, um während der Reaktion entstehendes Bromethan abzudestillieren. Anschließend wird der Überschuss an 1,3-Dibrompropan bei 12 mbar am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird dann bei  $9,6 \times 10^{-2}$  mbar und 190°C Ölbadtemperatur destilliert.

**Abbildung 10-3:** Diethyl-3-bromopropylphosphonat

Ausbeute: 23,2 wt.-% (5,79 mmol; 1,5 g)  
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) [ppm]: 1,34 (t, 6H, J=7 Hz, H-5); 1,81-1,98 (m, 2H, H-2);  
 2,06-2,23 (m, 2H, H-1); 3,48 (t, 2H, J=6 Hz, H-3);  
 4,10 (t, 4H, H-4)

#### 10.6.1.2. Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonat

In einem 50 ml Zweihalskolben mit Rückflußkühler werden 1 g (5,0 mmol) 4-Hydroxybenzophenon in 10 ml Aceton gelöst. Anschließend werden 1,5 g (5,5 mmol) Diethyl-3-bromopropylphosphonat und 0,7 g (5,1 mmol) Kaliumcarbonat zugegeben. Bei Zugabe von Kaliumcarbonat färbt sich die Reaktionslösung leuchtend rot. Der Ansatz wird unter Rückfluss für 8 Stunden gekocht. Die Aufarbeitung der Reaktion findet durch Zugabe von 5 ml Wasser und zweimaliger Extraktion unter Verwendung von je 5 ml Diethylether statt. Die organischen Phasen werden vereinigt und zweimal mit 7 ml wässriger Natronlauge (10%) extrahiert. Dann wird die organische Phase über Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Es verbleibt ein gelbes Öl, das mittels Säulenchromatographie aufgereinigt wird. Dabei dient Kieselgel als stationäre und ein Gemisch von 3 Teilen Diethylether und 2 Teilen Aceton als mobile Phase.

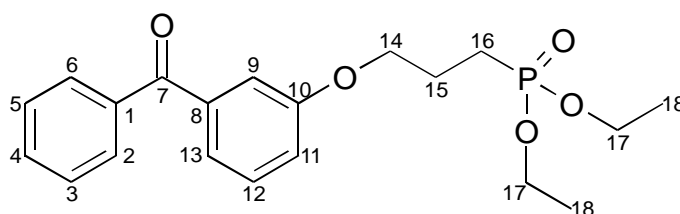


Abbildung 10-4: Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonat

Ausbeute: 82,7 wt.-% (4,12 mmol; 1,55 g)  
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) [ppm]: 1,32 (t, 6H, H-18); 1,90-1,98 (m, 2H, H-15); 2,09-2,19 (m, 2H, H-16); 4,08-4,12 (m, 6H, H-17 und H-14); 6,93 (m, 2H, H-9 und H-11); 7,46 (m, 2H, H-12 und H-13); 7,56 (m, 1H, H-4); 7,73 (m, 2H, H-3 und H-5); 7,79 (m, 2H, H-2 und H-6)  
<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) [ppm]: 16,8 (C-18); 22,4 (d, C-16); 23,1 (d, C-15); 62 (d, C-17); 69,7 (d, C-14); 114,3; 128,5; 130,0; 132,2; 132,9 (C-H<sub>arom</sub>, C-2 bis C-6, C-9 und C-11 bis C-13); 130,6; 138,6 (C<sub>arom</sub>, C-1 und C-8); 162,7 (C<sub>arom</sub>-O, C-10); 195,9 (C=O, C-7)

### 10.6.1.3. Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

In einem 50 ml Zweihalskolben werden 1,55 g (4,12 mmol) Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)-propylphosphonat in 20 ml Dichlormethan gelöst. Dieser Lösung werden 4,5 ml (32,9 mmol) Trimethylsilylbromid zugesetzt und für 40 Stunden gerührt. Anschließend werden der Überschuss Reagenz und das Lösungsmittel ins Vakuum entfernt, bis eine orangefarbene Flüssigkeit verbleibt. Diese wird mit 5 ml Methanol und 15 ml Wasser versetzt und für 48 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Dabei fällt ein weißer Feststoff aus, der isoliert, mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet wird.

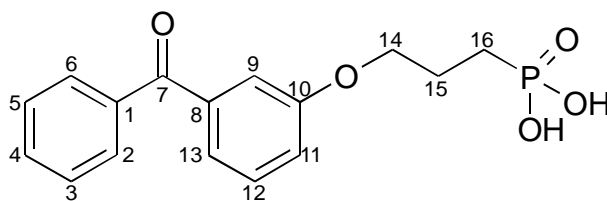


Abbildung 10-5: Diethyl-3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

Ausbeute:	84,1 wt.-% (3,59 mmol; 1,15 g)
$^1\text{H-NMR}$ (MeOH- $d_4$ ) [ppm]:	1,86-1,94 (m, 2H, H-15); 2,06-2,12 (m, 2H, H-16); 4,16 (t, 2H, H-14); 7,04 (m, 2H, H-9 und H-11); 7,51 (m, 2H, H-12 und H-13); 7,61 (m, 1H, H-4); 7,70 (m, 2H, H-3 und H-5); 7,78 (m, 2H, H-2 und H-6)
$^{13}\text{C-NMR}$ (MeOH- $d_4$ ) [ppm]:	24 (d, C-15); 24,7 (d, C-16); 69,2 (d, C-14); 115,3; 129,4; 130,7; 133,3; 133,7 ( $\underline{\text{C}}\text{-H}_{\text{arom}}$ , C-2 bis C-6, C-9 und C-11 bis C-13); 131,1; 139,5 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ , C-1 und C-8); 164,4 ( $\underline{\text{C}}_{\text{arom}}\text{-O}$ , C-10); 197,6 ( $\underline{\text{C}}\text{=O}$ , C-7)

### 10.6.2. Anbindung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure

Zur Aufbringung von 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure auf die Titansubstrate wird eine Lösung von 3,5 mg (0,011 mmol) 3-(4-Oxybenzophenon)propylphosphonsäure in 2 ml getrocknetem THF hergestellt. Von dieser Stammlösung werden 200  $\mu\text{l}$  entnommen und mit 10 ml getrocknetem THF versetzt. Das zu beschichtende Substrat wird unter Überleiten eines Stickstoffstroms in diese Lösung eingetaucht und bis zur Verdampfung des Lösungsmittels auf ein Niveau unterhalb der Titanfolien darin belassen. Das beschichtete Substrat wird für 48 Stunden bei 120°C in den Ofen gelegt und anschließend sechsmal für je 20 Minuten in getrocknetem THF mittels Ultraschallbad gewaschen.

### 10.6.3. Photochemische Anbindung

Die photochemische Anbindung von Poly(N-hexylvinylpyridiniumbromid) (hexyl-PVP) und Poly(4-vinylpyridin) (PVP) erfolgt unter Verwendung von mit 3-(4-Oxybenzophenon)-propylphosphonsäure beschichteten Titansubstraten. Die Aufbringung des Polymers erfolgt in einem Spin Coating-Prozess. Dazu wird eine methanolische Lösung von hexyl-PVP mit einer Konzentration von 10 mg / ml verwendet. Jeweils 70 µl dieser Lösung werden auf ein Substrat gegeben und mit einer Rotationsgeschwindigkeit von 2000 rpm für 30 Sekunden aufgeschleudert. Die so behandelten Substrate werden dann für 35 Minuten bei einer Wellenlänge von  $360\pm 50$  nm mit einer Intensität von  $100 \text{ mW/cm}^2$  belichtet. Die Entfernung nicht angebondenen Polymers erfolgt schließlich durch mindestens 18stündige Soxhlet-Extraktion der Substrate mit Methanol.

### 10.6.4. Anbindung oberflächenaktiver (Co)Polymere

Die Aufbringung phosphonathaltiger Polymere erfolgt in einem Spin Coating-Prozess. Dabei wird eine methanolische Lösung des entsprechenden (Co)Polymers mit einer Konzentration von 10 mg / ml verwendet. Jeweils 70 µl dieser Lösung werden auf ein Titansubstrat gegeben und mit einer Rotationsgeschwindigkeit von 2000 rpm für 30 Sekunden aufgeschleudert. Anschließend werden die Substrate für 15 bis 19 Stunden in einen auf  $120^\circ\text{C}$  temperierten Ofen gegeben. Die beschichteten Substrate werden dann sechsmal für zwanzig Minuten in Methanol (HPLC) mittels Ultraschallbad gewaschen, um nicht angebondenes Polymer zu entfernen.

## 10.7. Verwendete Geräte und Methoden

### NMR-Spektroskopie

Die  $^1\text{H}$ -NMR,  $^{13}\text{C}$ -NMR und  $^{31}\text{P}$ -NMR Messungen wurden im NMR-Labor der Chemischen Institute der Technischen Universität Braunschweig aufgenommen. Die Messungen wurden an einem Spektrometer der Fa. Bruker des Typs AM 400 bzw. des Typs AV 300 aufgenommen. Die  $^1\text{H}$ -Spektren wurden bei 400 MHz oder 300 MHz, die  $^{13}\text{C}$ -Spektren bei 100 MHz und die  $^{31}\text{P}$ -Spektren bei 160 MHz oder 120 MHz aufgenommen. Die Probenkonzentration betrug 20-30 mg auf 0,8 ml Lösungsmittel. Die verwendeten deuterierten Lösungsmittel sind bei der jeweiligen Synthesevorschrift im experimentellen Teil



angegeben. Bei Verwendung von  $\text{CDCl}_3$  diente Tetramethylsilan als interner Standard, bei allen anderen Lösungsmitteln erfolgte die Kalibrierung relativ zum Restlösungsmittelpeak.

### **Elementaranalyse**

Die Elementaranalysen wurden am Institut für Pharmazeutische Chemie der TU Braunschweig an einem Gerät der Fa. Carlo Erba Intrumentazione durchgeführt.

### **IR-Spektroskopie**

Die IR-Spektren wurden an einem FT-IR Equinox der Fa. Bruker aufgenommen. Feststoffe wurden in Form von KBr-Presslingen, Flüssigkeiten zwischen zwei NaCl-Plättchen jeweils gegen Luft als Referenz gemessen. Die Probenkonzentration von Feststoffen lag zwischen 1,5 und 3 mg auf 150 mg KBr. Flüssigkeiten wurden in Reinsubstanz gemessen. Die IR-Spektren wurden mit der OPUS-Software Version 3 ausgewertet.

### **Brechungsindexinkrement $dn/dc$**

Die quantitative Verwendung eines RI-Detektors in der Gelpermeationschromatographie erfordert die Bestimmung der Kalibrierkonstanten, welche die lineare Beziehung zwischen dem Signal des RI-Detektors und der Probenkonzentration beschreibt. Sind Brechungsindexinkrement der zu untersuchenden Substanz und Brechungsindex des Lösungsmittels bekannt, so kann die Kalibrierkonstante berechnet werden. Aus diesem Grund wurden die Brechungsindexinkremente der mittels Gelpermeationschromatographie zu untersuchenden, wasserlöslichen Polymere bestimmt. Die Bestimmung der Brechungsindexinkremente wurde am Institut für Physikalische Chemie der Universität Paderborn an einem Differentialrefraktometer Modell 2010/540 der Fa. PSS durchgeführt. Die Wellenlänge des Differentialrefraktometers lag bei 640 nm und das Refraktometer wurde auf 40°C thermostatiert. Für jedes der zu untersuchenden Polymere wurden fünf wässrige Lösungen unterschiedlicher Konzentrationen im Bereich zwischen 0,5 mg/ml und 6,0 mg/ml angesetzt, wobei das Volumen jeweils 5 ml betrug. Nach Spülen von Mess- und Referenzzelle mit Wasser, wurde anschließend das Wasser in der Messzelle durch ca. 2,5 ml der Lösung mit der geringsten Polymerkonzentration ersetzt. Nach Einstellen eines konstanten Probensignals, wurde die Polymerlösung der nächst höheren Konzentration eingespritzt. Auf diese Weise wurde bis zur Messung der höchsten Polymerkonzentration verfahren. Anhand der für alle fünf Konzentrationen erhaltenen Daten wurde durch das zugehörige Softwareprogramm

automatisch das entsprechende Brechungsindexinkrement ermittelt. Für alle untersuchten Polymere erfolgte eine Doppelbestimmung von  $dn/dc$ .

### **Gelpermeationschromatographie (GPC)**

Die Polymere wurden mit einer Konzentration von 1 mg / ml in entgastem Millipore Wasser gelöst, welches zum Schutz vor Keimen 0,05 wt.-% Natriumazid enthielt. Die Messapparatur bestand aus einer Merck HITACHI L6000A Pumpe, einem DAWN DSP Lichtstreuendetektor der Fa. Wyatt und einem Differential-Refraktometer des Typs RI-101 der Fa. Shodex. Die Messungen fanden bei 40°C und einer Flussrate von 0,5 ml / min statt. Es wurden eine PL-aquagel-OH Guard sowie zwei PL-aquagel-OH Mixed Säulen verwendet. Die Datenaufnahme und -auswertung erfolgte über die Software ASTRA der Fa. Wyatt. Die Molekulargewichtsbestimmung erfolgte relativ zu Pullulan Standards und unter Verwendung des für das jeweilige Polymer zuvor bestimmte Brechungsindexinkrements.

### **Energiedispersive Röntgenspektroskopie**

Die Proben wurden vor der Messung auf ein selbstklebendes Kohlepad gegeben und mit Gold bedampft. Die Aufnahmen wurden an einem mit einem energiedispersiven Röntgenspektrometer ausgestatteten Rasterelektronenmikroskop des Typs JSM-6400 der Fa. JOEL im Institut für Technische Chemie der TU Braunschweig durchgeführt.

### **Thermogravimetrische Analyse (TGA)**

Das thermische Zersetzungsverhalten von Polymer- und Kompositproben wurde an einem Gerät des Typs TG 209 der Fa. Netzsch gemessen. Die Proben wurden in Quarztiegel eingewogen und mit einer Heizrate von 20°C / min unter Stickstoffstrom vermessen. Die Auswertung erfolgte mit der Netzsch Proteus Software 4.2.

### **Transmissionselektronenmikroskopie**

Die transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden am Institut für Chemie der Universität Potsdam durchgeführt.

### **Belichtung**

Die Belichtungen erfolgten mit einer 200 W Hg-Lampe der Fa. Oriel, die mit einem Netzteil Model Nr. 86810 der gleichen Firma betrieben wurde. Dem Ausblenden von IR-Licht diente ein Wasserfilter. Um eine Einschränkung des UV-Bereichs auf  $360 \pm 50$  nm zu erreichen,

wurde ein Filter des Typs UG 1 der Fa. Spindler und Hoyer verwendet. Die Bestrahlungsintensität wurde vor jedem Experiment gemessen und durch eine Veränderung des Probenabstands zur Lampe auf  $100 \text{ mW/cm}^2$  eingestellt.

### **Spin Coating**

Die Aufbringung der Polymerfilme erfolgte mit einem Spin Coater Model P 6700 Series der Fa. Specialty Coating Systems. Dazu wurde bei einer Probenkonzentration von 10 mg pro ml eine Geschwindigkeit von 2000 rpm für eine Zeitdauer von 30 Sekunden gewählt.

### **Kontaktwinkelmessungen**

Für die Kontaktwinkelmessungen stand ein Kontaktwinkelmessgerät der Fa. Krüss vom Typ G1 zur Verfügung. Es wurde die Tilting-Plate Methode angewandt, wobei Wasser als flüssige Phase diente und ein Neigungswinkel von  $45^\circ$  eingestellt wurde. Pro Substrat wurden fünf Kontaktwinkelmessungen an unterschiedlichen Stellen durchgeführt.

### **Ellipsometrie**

Die ellipsometrischen Messungen wurden an einem Multiskop der Fa. Optrel durchgeführt. Dieses arbeitete mit einer festen Retarderstellung ( $\lambda/4$ -Plättchen). Polarisator und Analysator wurden so lange gegeneinander gedreht, bis keine Lichtintensität mehr gemessen werden konnte (Null-Ellipsometrie). Für jedes Titansubstrat wurden vor dem Beschichtungsprozess Referenzmessungen durchgeführt, um Brechungsindex und Extinktionskoeffizienten zu bestimmen. Die Auswertung erfolgte in Abhängigkeit der Anbindungsart der Polymerschicht unter Annahme eines Einschicht- bzw. Zweischichtsystems. Beim Einschichtmodell wurden zur Bestimmung der Schichtdicken die Winkel  $\Delta$  und  $\psi$  mit dem angenommenen Wert des Brechungsindex der Polymerschicht von 1,5 in Bezug gesetzt. Beim Zweischichtmodell wurden zunächst für die Monoschicht von 3-(4-Oxybenzophenon)-propylphosphonsäure die Werte für Brechungsindex, Extinktionskoeffizient und Schichtdicke bestimmt. Für die Bestimmung der Schichtdicke des im nächsten Schritt angebundenen Polymerfilms wurden diese Werte für die erste der beiden Filmschichten verwendet. Der Polymerfilm wurde als zweite Filmschicht betrachtet, wobei zur Bestimmung der Schichtdicke die Winkel  $\Delta$  und  $\psi$  mit dem angenommenen Wert des Brechungsindex der Polymerschicht von 1,5 in Bezug gesetzt wurde. Pro Substrat wurden fünf ellipsometrische Messungen an unterschiedlichen Stellen durchgeführt.

**Photoelektronenspektroskopie (XPS)**

XPS-Messungen wurden mit einem Instrument des Modells AXIS Ultra DLD der Fa. Kratos durchgeführt. Es wurde eine monochromatische Al K $\alpha$  Röntgenquelle verwendet. Aufnahmen der chemischen Zusammensetzung wurden unter Verwendung einer Passenergie von 80 eV erhalten. Die Spektren wurden bei einem takeoff-Winkel von 90° zur Ebene der Probenoberfläche aufgenommen. Für jede Beschichtung wurden zwei Substrate an je drei unterschiedlichen Stellen untersucht. Die Auswertung erfolgte mit der Vision2 Software.

**Atomabsorptions-Spektroskopie (AAS)**

Atomabsorptionsspektrometrische Untersuchungen wurden mit einem Instrument des Modells 4001 ZL der Fa. Perkin Elmer durchgeführt. Dabei handelt es sich um ein Zieman Atomic Spektrometer mit Graphitofentechnik. Jedes der auf Silberfreisetzung zu untersuchenden, beschichteten Substrate wurde in ein Schraubreagenzglas gegeben, das 15 ml Millipore-Wasser bzw. 15 ml TRIS-Puffer enthielt. Die Schraubreagenzgläser wurden anschließend in ein auf einem Schüttler gelagertes Heizelement gestellt, das auf 37°C temperiert war. Nach 1, 2, 3, 4 und 7 Tagen wurden jeweils 100  $\mu$ l der wässrigen Lösung mit einer Pipette entnommen und mittels AAS die enthaltene Silberionenkonzentration bestimmt. Für jede Beschichtung wurden drei Substrate ausgelagert und die freigesetzte Silberkonzentration bestimmt.

## 11. Literaturverzeichnis

- [1] BDIZ/EDI (2006) *Gesundheit und Wellness: Implantate - lange haltbar, lange schön*
- [2] MarketsandMarkets (2010) *Global Dental Implants Market, 2010-2015*
- [3] M. Hultin, A. Gustafsson, H. Hallström, L-A. Johansson, A. Ekfeldt, B. Klinge (2002) *Clin. Oral Impl. Res.* **13**, 349-358
- [4] H.C. Flemming (2002) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **59**(6), 629-640
- [5] H.C. Flemming (1994) *Stuttgarter Siedlungswasserwirtschaftliche Berichte*, Band 129, Oldenbourg Verlag, München
- [6] P. Watnick, R. Kolter (2000) *J. Bacteriol.* **182**(10), 2675-2679
- [7] P.E. Kolenbrander, J. London (1993) *J. Bacteriol.* **175**(11), 3247-3252
- [8] C. Elter, W. Heuer, A. Demling, M. Hannig, T. Heidenblut, F-W. Bach, M. Stiesch-Scholz (2008) *Int. J. Oral Maxillofac. Implants* **23**(2), 327-334
- [9] B. Groessner-Schreiber, M. Hannig, A. Dück, M. Griepentrog, D.F. Wenderoth (2004) *Eu. J. Oral Sci.* **112**(6), 516-522
- [10] N. Griep-Raming, M. Karger, H. Menzel (2004) *Langmuir* **20**, 11811-11814
- [11] J.C. Tiller, C-J. Liao, K. Lewis, A.M. Klibanov (2001) *Proc. Nat. Acad. Sci.* **98**(11), 5981-5985
- [12] J. Lin, J.C. Tiller, S.B. Lee, K. Lewis, A.M. Klibanov (2002) *Biotechnol. Lett.* **24**, 801-805
- [13] S.B. Lee, R.R. Koepsel, S.W. Morley, K. Matyjaszewski, Y. Sun, A.J. Russell (2004) *Biomacromolecules* **5**(3), 877-882
- [14] H. Murata, R.R. Koepsel, K. Matyjaszewski, A.J. Russell (2007) *Biomaterials* **28**(32), 4870-4879
- [15] K. Kuroda, W.F. DeGrado (2005) *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 4128-4129
- [16] G.N. Tew, G. Liu, B. Chen, R.J. Doerksen, J. Kaplan, P.J. Carroll, M. L. Klein, W.F. DeGrado (2002) *Proc. Nat. Acad. Sci.* **99**(8), 5110-5114
- [17] N. Adden, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, F. Thorey, H. Menzel (2007) *J. Biomat. Sci., Polym. Ed.* **18**, 303-316
- [18] R.M. Slawson, M.I. Van Dyke, H. Lee, J.T. Trevors (1992) *Plasmid* **27**(1), 72-79
- [19] K.S. Rogers (1972) *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Protein Structure* **263**(2), 309-314
- [20] N. Adden, L.J. Gamble, D.G. Castner, A. Hoffmann, G. Gross, H. Menzel (2006) *Biomacromolecules* **7**(9), 2552-2559

- [21] J. Rühe (1994) *Nachrichten aus Chemie, Technik und Laboratorium* **42**(12), 1237-1246
- [22] S. Tosatti, R. Michel, M. Textor, N.D. Spencer (2002) *Langmuir* **18**(9), 3537-3548
- [23] E.S. Gawalt, M.J. Avaltroni, N. Koch, J. Schwartz (2001) *Langmuir* **17**, 5736-5738
- [24] G. Busch, E. Jaehne, C. Xuediao, S. Oberoi, H.-J.P. Adler (2003) *Synth. Met.* **137**, 871-872
- [25] R. Hofer, M. Textor, N.D. Spencer (2001) *Langmuir* **17**, 4014-4020
- [26] S. Marcinko, A.Y. Fadeev (2004) *Langmuir* **20**, 2270-2273
- [27] B.M. Silverman, K.A. Wieghaus, J. Schwartz (2005) *Langmuir* **21**, 225-228
- [28] J. Schwartz, M.J. Avaltroni, M.P. Danahy, B.M. Silverman, E.L. Hanson, J.E. Schwarzbauer, K.S. Midwood, E.S. Gawalt (2003) *Mater. Sci. Eng. C* **23**, 395-400
- [29] M. Textor, L. Ruiz, R. Hofer, A. Rossi, K. Feldman, G. Hähner, N.D. Spencer (2000) *Langmuir* **16**, 3257-3271
- [30] E. Bae, W. Choi, J. Park, H.S. Shin, S.B. Kim, J.S. Lee (2004) *J. Phys. Chem. B* **108**(37), 14093-14101
- [31] O. Prucker, C.A. Naumann, J. Rühe, W. Knoll, C.W. Frank (1999) *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 8766-8770
- [32] O. Prucker, J. Rühe (1998) *Macromolecules* **31**(3), 592-601
- [33] H. Böttcher, M.L. Hallensleben, N. Nuß, H. Wurm (2000) *Polym. Bull.* **44**(2), 223-229
- [34] R. Jordan, A. Ulman, J.F. Kang, M.H. Rafailovich, J. Sokolov (1999) *J. Am. Chem. Soc.* **121**(5), 1016-1022
- [35] R. Jordan, A. Ulman (1998) *J. Am. Chem. Soc.* **120**(2), 243-247
- [36] V. Antoci Jr, C.S. Adams, J. Parvizi, H.M. Davidson, R.J. Composto (2008) *Biomaterials* **29**(35), 4684-4690
- [37] V. Antoci Jr., S.B. King, B. Jose, J. Parvizi, A.R. Zeiger, E. Wickstrom, T.A. Freeman, R.J. Composto, P. Ducheyne, I.M. Shapiro, N.J. Hickok, C.S. Adams (2007) *J. Orthop. Res.* **25**(7), 858-866
- [38] B. Jose, V. Antoci, A.R. Zeiger, E. Wickstrom, N.J. Hickok (2005) *Chemistry & Biology* **12**(9), 1041-1048
- [39] K. Glinel, A.M. Jonas, T. Jouenne, J. Leprince, L. Galas, W.T.S. Huck (2008) *Bioconjugate Chem.* **20**(1), 71-77
- [40] A. Shukla, K.E. Fleming, H.F. Chuang, T.M. Chau, C.R. Loose, G.N. Stephanopoulos, P.T. Hammond (2010) *Biomaterials* **31**(8), 2348-2357

- [41] A.R. Statz, R.J.Meagher, A.E. Barron, P.B. Messersmith (2005) *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 7972-7973
- [42] A.R. Statz, A.E. Barron, P.B. Messersmith (2008) *Soft Matter* **4**, 131-139
- [43] F.R. Othman Bouloussa, V. Semetey (2008) *Chem. Commun.*, 951-953
- [44] Varun Sambhy, B.R.Peterson, A. Sen (2008) *Langmuir* **24**, 7549-7558
- [45] V. Sambhy, B.R.Peterson, A. Sen, M.M. MacBride (2006) *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 9798-9808
- [46] C. Walsh, (2000) *Nature* **406**(6797), 775-781
- [47] D. Kahne, C. Leimkuhler, W. Lu, C. Walsh (2005) *Chem. Rev.* **105**(2), 425-448
- [48] S.M. Wojcik, D.A. Puleo (1997) *Biomed. Sci. Instrum.* **33**, 166-171
- [49] N. Papo, Y. Shai (2005) *Cell. Mol. Life Sci.* **62**, 784-790
- [50] M. Zasloff (2002) *Nature* **415**, 389-395
- [51] E.A. Porter, X. Wang, H-S. Lee, B. Weisblum, S.H. Gellman (2000) *Nature* **404**(6778), 565-565
- [52] G.N. Tew, R.W. Scott, M.L. Klein, W.F. DeGrado (2009) *Acc. Chem. Res.* **43**(1), 30-39
- [53] P. Gilbert, L.E. Moore (2005) *J. Appl. Microbiol.* **99**(4), 703-715
- [54] P.A. Lambert, S.M. Hammond (1973) *Biochem. Biophys Res. Commun.* **54**(2), 796-799
- [55] W.D. Salt, D. Wiseman (1970) *J. Pharm. Pharmacol.* **22**, 261-264
- [56] M.R.J. Salton (1968) *J. Gen. Physiology* **52**, 227-252
- [57] N. Grier (1977) *Disinfection, Sterilization and Preservation* (S. S. Block Ed.) Lea and Febiger, Philadelphia.
- [58] W. Ghandour, J.A. Hubbard, J. Deistung, M.N. Hughes, R.K. Poole (1988) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **28**(6), 559-565
- [59] W.J. Schreurs, H. Rosenberg (1982) *J. Bacteriol.* **152**(1), 7-13
- [60] N. Kawabata, M. Nishiguchi (1988) *Appl. Environ. Microbiol.* **54**(10), 2532-2535
- [61] O.P. Edupuganti, V. Antoci Jr., S.B. King, B. Jose, C.S. Adams, J. Parvizi, I.M. Shapiro, A.R. Zeiger, N.J. Hickok, E. Wickstrom (2007) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **17**(10), 2692-2696
- [62] C. Pfaffenroth (2006) *Masterarbeit*, TU Braunschweig
- [63] B. Tieke (1977) *Makromolekulare Chemie*, Wiley-VCH
- [64] H-G. Elias (1999) *Makromoleküle Band 1*, Wiley-VCH, Weinheim

- [65] M.D. Lechner, K. Gehrke, E.H. Nordmeier (1996) *Makromolekulare Chemie*, Birkhäuser Verlag, Basel
- [66] A. Ulman (1995) *Characterization of Organic Thin Films*, Materials Characterization Series, Butterworth-Heinemann, Stoneham,
- [67] R. Riedl, D. Neumann, J. Teubner (1989) *Technologie des Offsetdrucks*, VFB Fachbuchverlag Leipzig
- [68] J.M. Howe (1997) *Interfaces in Materials*, John Wiley and Sons, Inc., New York
- [69] J.M.G. Cowie (1997) *Chemie und Physik der synthetischen Polymeren*, Vieweg Verlag, Wiesbaden
- [70] A.W. Adamson (1967) *Physical Chemistry of Surfaces*, John Wiley and Sons, Inc., New York
- [71] J.C. Berg (1993) *Wettability*, Surfactant Sciences Series **49**, Marcel Dekker, Inc., New York
- [72] H.G. Tompkins (1993) *A User's Guide to Ellipsometry*, Academic Press, Inc., San Diego
- [73] M. Stamm, M., *Polymer Surfaces and Interfaces*, Springer Verlag, Berlin, 2008.
- [74] B.D.C Rattner, G. David (2009) *Electron Spectroscopy for Chemical Analysis*, Surface Analysis - The Principal Techniques, 2nd Edition, John Wiley & Sons, Ltd.
- [75] D. Brune, R. Hellborg, H.J. Whitlow, O. Hunderi (1997) *Surface Characterization: A User's Sourcebook*, Wiley-VCH Verlag GmbH
- [76] V.A. Kabanov, K.V. Aliev, O.V. Kargina, T.I. Patrikeeva, V.A. Kargin (1967) *J. Polym. Sci., Part C* **16**, 1079-1094
- [77] V.A. Kabanov, K.V. Aliev V.A. Kargin (1968) *Vysokomol Soedin., Ser. A* **10**(7), 1618-1632.
- [78] A.K. Bhattacharya, G. Thyagarajan (1981) *Chem. Rev.* **81**(4), 415-430
- [79] R. Frantz, J-O. Durand, F. Carre, G.F. Lanneau, J. Le Bideau, B. Alonso, D. Massiot (2003) *Chem. Eur. J.* **9**(3), 770-775
- [80] C. Bressy-Brondino, B. Boutevin, Y. Hervaud, M. Gaboyard (2002) *J. Appl. Polym. Sci.* **83**, 2277-2287
- [81] R.M. Fuoss, G.I. Cathers (1949) *J. Polym. Sci.* **4**(2), 97-120
- [82] J. Bohrisch, U. Wendler, W. Jaeger (1997) *Macromol. Rapid Comm.* **18**(11), 975-982
- [83] J. M. Lee, B.H. Lee, S. Choe (2006) *Polymer* **47**(11), 3838-3844
- [84] J. Xia, X. Zhang, K. Matyjaszewski (1999) *Macromolecules* **32**(10), 3531-3533
- [85] S. Creutz, P. Teyssie, R. Jerome (1997) *Macromolecules* **30**(1), 1-5



- [86] G. David, C. Boyer, R. Tayouo, S. Seabrook, B. Ameduri, B. Boutevin, G. Woodward, M. Destarac (2008) *Macromol. Chem. Phys.* **209**(1), 75-83
- [87] B. Boutevin, Y. Hervaud, Y. Pietrasantra (1981) *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.* **11**, 373-381.
- [88] B. Boutevin, Y. Hervaud, A. Boulahna, El Mestafa El Hadrami (2002) *Polym. Int.* **51**(5), 450-457
- [89] N. Adden, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, F. Thorey, H. Menzel (2007) *J. Biomater. Sci. Polymer Edn*, **18**(3), 303-316
- [90] N. Moszner, F. Zeuner, U.K. Fischer, V. Rheinberger (1999) *Macromol. Chem. Phys.* **200**(5), 1062-1067
- [91] D. Derouet, P. Intharapat, Q.N. Tran, F. Gohier, C. Nakason (2009) *Eur. Polym. J.* **45**(3), 820-836
- [92] A. Britze, K. Moosmann, E. Jähne, H-J. Adler, D. Kuckling (2006) *Macromol. Rapid Comm.* **27**(22), 1906-1912
- [93] B.C. Allison, B.M. Applegate, J.P. Youngblood (2007) *Biomacromolecules* **8**(10), 2995-2999.
- [94] J. Brandrup, E.H. Immergut (1975) *Polymer Handbook*, Second Edition, John Wiley and Sons, New York
- [95] K.D. Belfield, J. Wang (1995) *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **33**(8), 1235-1242
- [96] B. Boutevin, Y. Hervaud, A. Boulahna, M. El Asri (2002) *Macromolecules* **35**(17), 6511-6516
- [97] F. Jiang, A. Kaltbeitzel, W.H. Meyer, H. Pu, G. Wegner (2008) *Macromolecules* **41**(9), 3081-3085
- [98] D.M. Haddleton, M.C. Crossman, K.H. Hunt, C. Topping, C. Waterson, K.G. Suddaby (1997) *Macromolecules* **30**(14), 3992-3998
- [99] M.J. Ziegler, K. Matyjaszewski (2001) *Macromolecules* **34**(3), 415-424
- [100] K. Matyjaszewski (1998) *Macromolecules* **31**(15), 4710-4717
- [101] Z. El Asri, K. Chougrani, C. Negrell-Guirao, G. David, B. Boutevin, C. Loubat (2008) *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **46**(14), 4794-4803
- [102] V. Sambhy, B.R. Peterson, A. Sen (2008) *Angew. Chem. Int. Ed.* **47**(7), 1250-1254
- [103] W. Heuer, A. Winkel, P. Kohorst, A. Lutzke, C. Pfaffenroth, H. Menzel, Fr-W. Bach, J. Volk, G. Leyhausen, M. Stiesch (2010) *Adv. Eng. Mater.* **12**(11), 609-617
- [104] N. Menshutkin (1890) *Z. physik. Chem.* **6**, 41

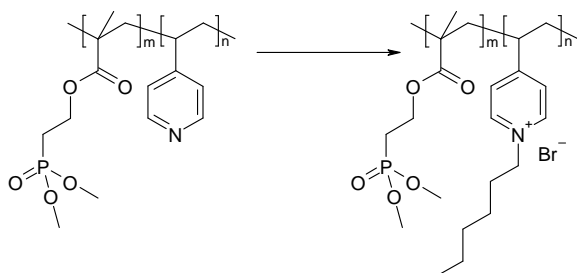
- [105] B.D. Coleman, R.M. Fuoss (1955) *J. Am. Chem. Soc.* **77**(21), 5472-5476
- [106] R.M. Fuoss, O. Strauss (1948) *J. Polym. Sci.* **3**(2), 246
- [107] R.M. Fuoss, M. Watanabe, B.D. Coleman (1960) *J. Polym. Sci.* **48**(150); 5-15
- [108] E.A. Boucher, J.A. Groves, C.C. Mollet, P.W. Fletcher (1977) *Chem. Soc., Faraday Trans. I: Physical Chemistry in Condensed Phases* **73**, 1629-1635
- [109] Y. Frere, P. Gramain (1992) *Macromolecules* **25**(12), 3184-3189
- [110] M. Biesalski, J. Rühe (1999) *Macromolecules* **32**, 2309-2316
- [111] V.P. Panov, E.D. Vorontsov, V.P. Evdakov (1975) *J. Appl. Spectros.* **23**(1), 958-962
- [112] S.C. Ghanshyam, S. Baljit, K.D. Surya (2004) *J. Appl. Polym. Sci.* **91**(4), 2454-2464
- [113] M. Pattabi, K.M. Rao (1998) *J. Phys. D: Appl. Phys.* **31**, 19-23
- [114] M.S. Kunz, K.R. Shull, A.J. Kellock (1992) *J. Appl. Phys.* **72**(9), 4458-4460
- [115] H. Aibin, X. Chaobo, Z. Lin (2005) *J. Appl. Polym. Sci.* **96**(6), 2146-2153.
- [116] M. Rodríguez-Baeza, M. Zapata, G. Cardenas T., L.H. Tagle D. (1993) *Thermochim. Acta* **225**(1), 67-74
- [117] G. Lewis (1993) *J. Vac. Sci. Technol. A: Vacuum, Surfaces, and Films* **11**(2), 325-335
- [118] M. Ask, J. Lausmaa, B. Kasemo (1989) *Appl. Surf. Sci.* **35**(3), 283-301
- [119] G. Rådegran, J. Lausmaa, L. Mattsson, U. Rolander, B. Kasemo (1991) *J. Electron Microsc. Tech.* **19**(1), 99-106
- [120] C. Viorner, Y. Chevolot, D. Leonard, B-O. Aronsson, P. Pechy, H.J. Mathieu, P. Descouts, M. Grätzel (2002) *Langmuir* **18**(7), 2582-2589
- [121] D. Briggs, G. Beamson (1992) *High-Resolution XPS of Organic Polymers*, The Scienta ESCA300 Database, John Wiley and Sons, Chichester U.K.
- [122] S. Szunerits, N. Shirahata, P. Actis, J. Nakanishi, R. Boukherroub (2007) *Chem. Comm.* **27**, 2793-2795
- [123] L. Cen, K.G. Neoh, E.T. Kang (2003) *Langmuir* **19**(24), 10295-1030
- [124] G. Dorman, G.D. Prestwich (1994) *Biochemistry* **33**(19), 5661-5673
- [125] C. Lorenz, A. Hoffmann, G. Gross, H. Windhagen, P. Dellinger, K. Möhwald, W. Dempwolf, H. Menzel (2011) *Macromol. Biosci.* **11**(2), 234-244
- [126] R. Kumar, H. Münstedt (2005) *Biomaterials* **26**(14), 2081-2088
- [127] D. Fischer, Y. Lee, B. Ahlemeyer, J. Kriegelstein, T. Kissel (2003) *Biomaterials* **24**(7), 1121-1131
- [128] T.R. Stratton, J.L. Rickus, J.P. Youngblood (2009) *Biomacromolecules* **10**(9), 2550-2555

- [129] T.Y El Sayegh, R.M. Pilliar, C.A.G. McCulloch (2002) *J. Biomed. Mater. Res.* **61**(3), 482-492
- [130] M.C. Serrano, R. Pagani, M. Vallet-Regi, J. Pena, A. Ramila, I. Izquierdo, M.T. Portoles (2004) *Biomaterials* **25**(25), 5603-5611
- [131] P.R. Kramer, A. JanikKeith, Z. Cai, S. Ma, I. Watanabe (2009) *Dent. Mater.* **7**, 877-883
- [132] D.B. Mitchel, K.S. Santone, D. Acosta (1980) *J. Tissue Cult. Meth.* **6**(3&4), 113-116
- [133] D.A. Tipton, B. Lyle, H. Babich, M.Kh. Dabbous (2003) *Toxicology in Vitro* **17**(3), 301-310
- [134] M. Bucolo, S. Carnazza, L. Fortuna, M. Frasca, S. Guglielmino, G. Marletta, C. Satriano (2004) *Circuits and Systems, 2004, ISCAS '04, Proceedings of the 2004 International Symposium*
- [135] M. Caratozzolo, S. Carnazza, L. Fortuna, L. Frasca, S. Guglielmino, G. Gurrieri, G. Marletta (2008) *Math. Biosci. Eng.* **5**(1), 75-83
- [136] T.R. Stratton, B.M. Applegate, J.P. Youngblood ( 2011) *Biomacromolecules* **12**(1), 50-56
- [137] P.H. Sellenet, B. Allison, B.M. Applegate, J.P. Youngblood (2006) *Biomacromolecules* **8**(1), 19-23
- [138] R.G. Bates, H.B. Hetzer (1961) *J. Phys. Chem.* **65**(4), 667-671
- [139] R.E. Benesch, R. Benesch (1955) *J. Am. Chem. Soc.* **77**(10), 2749-2750
- [140] T.R. Tregear in J.F. Danielli (1966) *Theoretical and Experimental Biology* **Vol.5**, Academic Press., London, 47-48
- [141] F. Schwieger, C.C. Tebbe (1998) *Appl. Environ. Microbiol.* **64**(12), 4870-4876
- [142] J.A. Aas, B.P. Paster, L.N. Stokes, I. Olsen, F.E. Dewhurst (2005) *J. Clin. Microbiol.* **43**(11), 5721-5732
- [143] P.S. Kumar, A.L. Griffen, J.A. Barton, B.J. Paster, M.L. Moeschberger E.L. Leys (2003) *J. Dent. Res.* **82**(5), 338-344
- [144] University of British Columbia (2009) *Clinical Microbiology Proficiency Testing: Clinical Bacteriology (M084-4 Blood: G. adiacens)*, Kanada
- [145] R.A. Whiley, H. Fraser, J.M. Hardie, D. Beighton (1990) *J. Clin. Microbiol.* **28**(7), 1497-1501
- [146] H.R. Attebery, V.L. Sutter, S.M. Finegold (1972) *Am. J. Clin. Nutr.* **25**(12), 1391-1398
- [147] P.H. Long, E.A. Bliss (1934) *J. Exp. Med.* **60**, 619-631

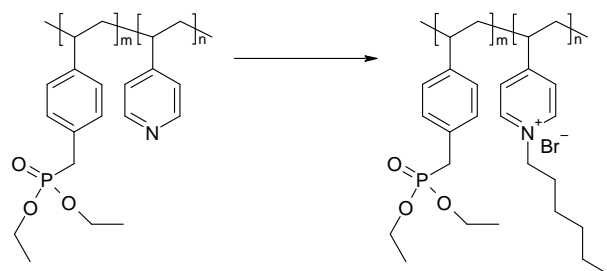
- [148] B. Mejare, S. Edwardsson (1975) *Arch. Oral Biol.* **20**, 757-762
- [149] G.S.T. Mirick, E.C. Curnen, F.L. Horsfall (1944) *J. Exp. Med.* **80**, 391-406
- [150] P.M. Poole, G. Wilson (1979) *J. Clin. Pathol.* **32**, 764-768
- [151] K.L. Ruoff, L.J. Kunz (1982) *J. Clin. Microbiol.* **15**, 920-925
- [152] P. Unsworth (1980) *J. Hyg.* **85**, 153-164
- [153] N.T. Bateman, S.J. Eykyn, I. Phillips (1975) *Lancet* **I**, 657-659
- [154] J. De Louvois (1980) *J. Clin. Pathol.* **33**, 66-71
- [155] K.P. Singh, A. Morris, S.D. Lang, D.M. MacCulloch, D.A. Bremner (1988) *N. Z. Med. J.* **101**, 813-816
- [156] P. Van der Auwera (1985) *Eur. J. Clin. Microbiol.* **4**, 386-390
- [157] J.A. Koepke (1965) *J. Am. Med. Assoc.* **193**, 739-740
- [158] P.M. Poole, G. Wilson (1977) *J. Clin. Pathol.* **30**, 937-942
- [159] H.K. Geiss (2009) *Lexikon der Infektionskrankheiten des Menschen*, Springer Verlag, **6**, 327-329
- [160] P. Marsh, M.V. Martin (2003) *Orale Mikrobiologie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- [161] G. Dahlen, A.J. Moller (1992) *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*, Mosby, St. Louis, 444-475
- [162] A. Molander, C. Reit, G. Dahlen, T. Kvist (1998) *Int. Endod. J.* **31**, 1-7
- [163] E. Helgason, D.A. Caugant, I. Olsen, A-B. Kolsto (2000) *J. Clin. Microbiol.* **38**, 1616-1622
- [164] B.T. Johnson, L.N. Shaw, D.C. Nelson, J.A. Mayo (2008) *J. Med. Microbiol.* **57**(5), 643-651
- [165] F.A. Drobniewski (1993) *Clin. Microbiol. Rev.* **6**, 324-338
- [166] J. Travis, R. Pike, T. Imamura, J. Potempa (1997) *J. Periodontal Res.* **32**, 120-125

## Polymerverzeichnis

### a) potentiell kontaktbakterizide Polymere

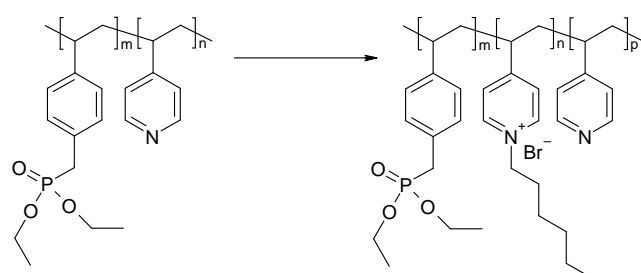


Probe	Gehalt in mol-%	
	m	n
1a	76	24
1b	60	40
1c	40	60
1d	31	69
1e	21	79



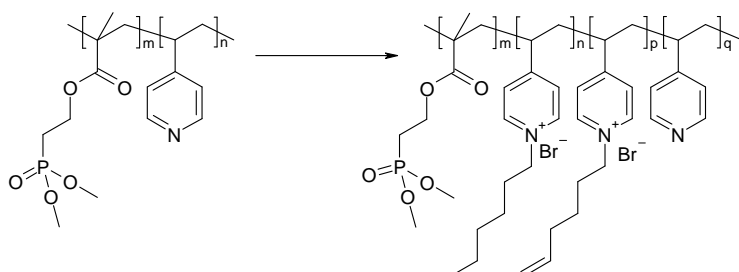
Probe	Gehalt in mol-%	
	m	n
2a	90	10
2b	80	20
2c	51	49
2d	40	60
2e	31	69
2f	21	79

### b) Polymermatrices für silberhaltige Komposite



Probe	Gehalt in mol-%			Vorstufe (VBP:4-VP in mol-%)
	m	n	p	
2g (23%)	35	23	42	2g (35:65)
2g (51%)	35	33	32	
2h (26%)	24	20	56	2h (24:76)
2h (58%)	24	44	32	
2i (24%)	18	20	62	2i (18:82)
2i (61%)	18	50	32	

### c) Polymermatrices für vernetzbare silberhaltige Komposite



Probe	Gehalt in mol-%				Vorstufe (DMMEP:4-VP in mol-%)
	m	n	p	q	
1f (23% / 13%)	52	11	6	31	1f (52:48)
1f (16% / 24%)	52	8	12	28	
1f (12% / 29%)	52	6	14	28	
1f (--- / 43%)	52	---	21	27	